

**OPTIMASI KONDISI IMOBILISASI ENZIM LIPASE DARI *Lysinibacillus
boronitolerans* LKM G1 MENGGUNAKAN MATRIKS SILIKA DARI
DAUN KELAPA SAWIT**

(Skripsi)

Oleh

**ADELIA RENTA MARITO TAMPUBOLON
NPM 2117011034**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

ABSTRAK

OPTIMASI KONDISI IMOBILISASI ENZIM LIPASE DARI *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1 MENGGUNAKAN MATRIKS SILIKA DARI DAUN KELAPA SAWIT

Oleh

ADELIA RENTA MARITO TAMPUBOLON

Enzim lipase merupakan enzim golongan hidrolase yang dapat menghidrolisis triasilgliserol menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Untuk meningkatkan kestabilan dan optimalitas penggunaannya, enzim dapat diimobilisasi pada padatan yang tidak larut dalam air seperti silika.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kondisi optimum imobilisasi enzim lipase pada silika dari daun kelapa sawit dan mengetahui kemampuan penggunaan berulang enzim hasil imobilisasi pada reaksi hidrolisis. Tahapan penelitian meliputi produksi enzim, pemurnian enzim fraksinasi amonium sulfat dan dialisis, imobilisasi, dan karakterisasi enzim hasil imobilisasi serta penggunaan berulang pada reaksi hidrolisis.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa enzim hasil pemurnian memiliki aktivitas spesifik sebesar 3484,35 U/mg, lebih tinggi 2,36 kali dibandingkan ekstrak kasar enzim yang memiliki aktivitas spesifik sebesar 1474,82 U/mg. Imobilisasi meningkatkan kestabilan enzim lipase dengan pH optimum pengikatan pada pH 8 dan suhu optimum imobilisasi sebesar 45°C, lebih tinggi 5°C dibandingkan enzim bebas. Enzim lipase hasil imobilisasi masih dapat mempertahankan aktivitasnya sebesar 60,9% setelah tiga kali pengulangan reaksi hidrolisis.

Kata kunci: imobilisasi, lipase, *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1, silika daun kelapa sawit

ABSTRACT

OPTIMIZATION OF CONDITIONS FOR IMMOBILIZATION OF LIPASE ENZYME FROM *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1 WITH SILICA MATRIX FROM PALM OIL LEAVES

By

ADELIA RENTA MARITO TAMPUBOLON

Lipase enzyme is a hydrolase class enzyme that can hydrolyze triacylglycerol into free fatty acids and glycerol. To increase the stability and optimality of its use, the enzyme can be immobilized on water-insoluble solids such as silica. This study aims to obtain the optimum conditions for lipase enzyme immobilization on silica from palm oil leaves and determine the ability of repeated use of immobilized enzymes in hydrolysis reactions. The research stages included enzyme production, purification of enzyme by ammonium sulfate fractionation and dialysis, immobilization, and characterization of immobilized enzyme and repeated use in hydrolysis reaction. The results showed that the purified enzyme had a specific activity of 3484,35 U/mg, 2,36 times higher than the crude enzyme extract which had a specific activity of 1474,82 U/mg. Immobilization increased the stability of lipase enzyme with optimum pH of binding at pH 8 and optimum temperature of immobilization at 45°C, 5°C higher than free enzyme. The immobilized lipase enzyme can still maintain its activity of 60.9% after three repetitions of the hydrolysis reaction.

Keywords: immobilization, lipase, *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1, silica

**OPTIMASI KONDISI IMOBILISASI ENZIM LIPASE DARI *Lysinibacillus
boronitolerans* LKM G1 MENGGUNAKAN MATRIKS SILIKA DARI
DAUN KELAPA SAWIT**

Oleh

ADELIA RENTA MARITO TAMPUBOLON

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

Judul Skripsi

: OPTIMASI KONDISI IMOBILISASI ENZIM
LIPASE DARI *Lysinibacillus boronitolerans*
LKM G1 MENGGUNAKAN MATRIKS
SILIKA DARI DAUN KELAPA SAWIT

Nama Mahasiswa

: Adelia Renta Marito Tampubolon

Nomor Pokok Mahasiswa

: 2117011034

Jurusan

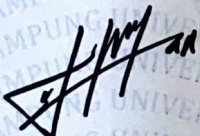
: Kimia

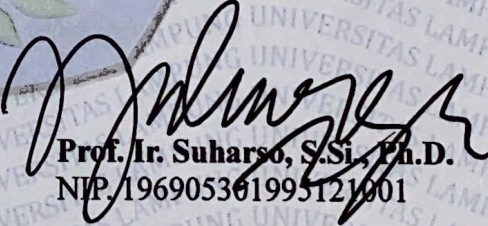
Fakultas

: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

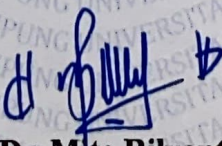


1. Komisi Pembimbing


Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si.
NIP. 197412111998022001


Prof. Ir. Suharso, S.Si., Ph.D.
NIP. 196905301995121001

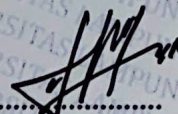
2. Ketua Jurusan Kimia


Prof. Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si.
NIP. 197205302000032001

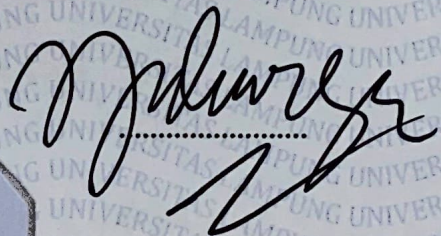
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

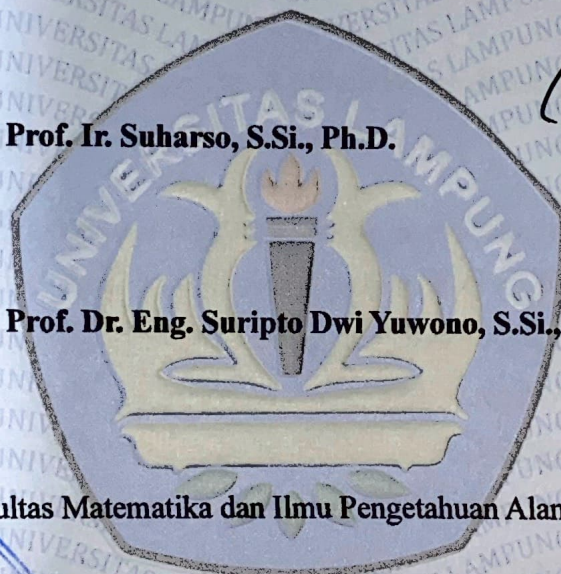
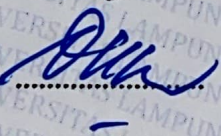
Ketua : Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si.



Sekretaris : Prof. Ir. Suharso, S.Si., Ph.D.



Anggota : Prof. Dr. Eng. Supto Dwi Yuwono, S.Si., M.T.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.

NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 30 Juli 2025

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Adelia Renta Marito Tampubolon
NPM : 2117011034
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya, bahwa skripsi saya yang berjudul:

Optimasi Kondisi Imobilisasi Enzim Lipase dari *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1 Menggunakan Matriks Silika dari Daun Kelapa Sawit merupakan benar karya saya sendiri yang tidak terdapat karya orang lain kecuali disebutkan dalam daftar pustaka. Sehingga, apa yang tercantum di dalam skripsi saya ini dapat dipertanggungjawabkan. Saya juga tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data di dalam skripsi tersebut digunakan oleh program studi untuk kepentingan publikasi selama nama saya tercantum dalam publikasi tersebut atas kesepakatan bersama.

Demikianlah surat ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Bandar Lampung, 10 Agustus 2025



Adelia Renta Marito Tampubolon
NPM. 2117011034

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Adelia Renta Marito Tampubolon, lahir di Bandar Lampung pada tanggal 20 Juni 2003. Penulis merupakan anak kedua dari empat bersaudara, putri dari Bapak Bilson Halomoan Tampubolon dan Ibu Junita Tiarma br. Siahaan. Penulis mengawali jenjang pendidikannya dari Taman Kanak-

Kanak (TK) Sejahtera IV Kedaton Bandar Lampung pada tahun 2008-2009, kemudian melanjutkan pendidikan Sekolah Dasar di SD Sejahtera IV Kedaton Bandar Lampung pada tahun 2009-2015. Pada tahun 2015-2018 pendidikan menengah pertama penulis ditempuh di SMPN 22 Bandar Lampung, dan pendidikan menengah atas penulis diselesaikan di SMAN 15 Bandar Lampung pada tahun 2018-2021.

Pada tahun 2021, penulis diterima sebagai mahasiswa Program Studi S1 Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama menjalani masa perkuliahan, penulis aktif dalam berbagai kegiatan organisasi kemahasiswaan. Pada tahun 2021, penulis mengawali aktivitas organisasi sebagai Kader Muda Himaki (KAMI) kemudian pada tahun yang sama

penulis juga mengikuti kegiatan Karya Wisata Ilmiah ke-XXXII yang diadakan oleh BEM FMIPA Unila. Pada tahun 2022, penulis menjadi anggota Bidang Kaderisasi dan Pengembangan Organisasi dari Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKI). Pada tahun 2023 menjadi anggota Bidang Hubungan Internal dan Kepemudaan Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) FMIPA Unila. Penulis juga mengikuti program Merdeka Belajar Kampus Merdeka (MBKM) Kewirausahaan dan berhasil memperoleh hibah Program Pembinaan Mahasiswa Wirausaha (P2MW) yang diselenggarakan oleh Kemendikbudristek pada tahun 2023. Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) pada bulan Januari-Februari 2024 di desa Rejomulyo Kecamatan Jati Agung. Pada tahun 2024, penulis juga pernah menjadi asisten Praktikum Kimia Dasar Jurusan Teknik Lingkungan FT Universitas Lampung dan Praktikum Biokimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung. Pada bulan Juli-Agustus 2024, penulis menyelesaikan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Laboratorium Bakteriologi, Balai Veteriner Lampung. Sebagai bentuk penerapan ilmu di dunia kerja, penulis telah menyelesaikan skripsi yang berjudul “Optimasi Kondisi Imobilisasi Enzim Lipase dari *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1 menggunakan Matriks Silika dari Daun Kelapa Sawit”.

PERSEMBAHAN

Puji dan syukur kehadiran Tuhan Yesus Kristus, dalam kasih dan kuasa-Nya, setiap langkahku dituntun, setiap air mataku dijawab dengan damai, dan setiap proses dalam perjuangan ini dipenuhi berkat yang tak terhitung. Tanpa-Nya, aku tak akan sampai sejauh ini. Dengan penuh kerendahan hati, kupersembahkan karya ini kepada:

Orang Tuaku Tercinta:

Bapak **Bilson Halomoan Tampubolon** dan Ibu **Junita Tiarma Siahaan** untuk kasih yang tidak bersyarat, peluh yang menjadi berkat, dan doa yang menjadi benteng dalam setiap langkahku.

Ketiga Saudariku:

Angelia Patrecia Putri Tampubolon, Amelia Crissela Tampubolon, dan Artha Uli Tampubolon yang selalu penulis sayangi.

Dengan rasa hormat kepada:

Ibu **Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si.**, Bapak **Prof. Ir. Suharso, S.Si., Ph.D.**, dan Bapak **Prof. Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, S.Si., M.T.**, serta seluruh dosen Kimia FMIPA Universitas Lampung yang dengan tulus membagikan ilmu dan inspirasi hingga penulis mencapai gelar sarjana.

Sahabat-sahabatku tersayang yang selalu hadir bukan hanya saat tawa, tetapi juga saat air mata. Kalian mengingatkanku bahwa aku tidak pernah benar-benar sendiri.

Almamater Tercinta Universitas Lampung.

Diriku sendiri, yang telah belajar bertahan di tengah ragu, yang telah memilih untuk tetap melangkah meski tak selalu kuat, dan yang kini memetik hasil dari keberanian untuk tidak menyerah.

MOTTO

IN THE NAME OF JESUS

“GOODNESS OF GOD”

“Segala perkara dapat kutanggung di dalam Dia yang memberi kekuatan kepadaku.”
(Filipi 4:13)

“Serahkanlah perbuatanmu kepada Tuhan, maka terlaksanalah rencanamu.”
(Amsal 16:3)

“Karena masa depan sungguh ada, dan harapanmu tidak akan hilang.”
(Amsal 23:18)

“Diberkatilah orang yang mengandalkan Tuhan, yang menaruh harapannya pada Tuhan”
(Yeremia 17:7)

“You raise me up, so I can stand on mountains.”
(Josh Groban)

“Let it be.”
(The Beatles)

SANWACANA

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yesus atas berkat dan kasih karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Optimasi Kondisi Imobilisasi Enzim Lipase dari *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1 Menggunakan Matriks Silika dari Daun Kelapa Sawit”**.

Perjalanan dalam menyusun skripsi ini penuh dengan pembelajaran, tantangan, dan proses yang tidak mudah. Namun di dalam setiap langkah, penulis disadarkan bahwa karya ini tidak mungkin terselesaikan tanpa bantuan, bimbingan, dukungan, dan kasih dari banyak pihak. Maka, dengan penuh rasa syukur dan hormat, penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang tulus kepada:

1. Bapak Bilson Halomoan Tampubolon dan Ibu Junita Tiarma Siahaan selaku orang tua tercinta penulis. Terima kasih atas setiap doa yang tak pernah putus, pengorbanan yang begitu besar, kasih yang tak bersyarat, dan dukungan yang tulus. Dalam setiap langkah yang penulis ambil, ada kekuatan dari cinta dan didikan Bapak dan Mama. Perjalanan hidup kita memang tidak mudah, tetapi segala hal yang telah dilalui telah mengajarkan penulis arti menjadi perempuan yang kuat, bertanggung jawab, dan mandiri. Dengan segenap hati, penulis sangat mencintai Bapak dan Mama, dan akan selalu berusaha membuat kalian bangga. Semoga Tuhan senantiasa memberikan kesehatan, umur panjang, dan sukacita, agar Bapak dan Mama dapat menyaksikan buah dari setiap perjuangan yang telah kalian tabur, bukan hanya pada hari ini, tapi juga dalam keberhasilan-keberhasilan lainnya di masa depan.

2. Angelia Patrecia Putri Tampubolon selaku kakak tercinta penulis, serta adik-adik tersayang penulis, Amelia Crissela Tampubolon dan Artha Uli Tampubolon. Terima kasih atas tawa yang kalian bawa, semangat yang kalian bagikan, dan cinta yang selalu terasa dekat meski dalam diam. Kalian adalah tempat pulang yang hangat di tengah hiruk-pikuk dunia, rumah yang selalu menerima tanpa syarat. Terima kasih untuk doa-doa yang mungkin tak selalu terucap, tapi selalu sampai. Semoga perjalanan kalian masing-masing selalu dipenuhi berkat, keberanian, dan kebahagiaan. Mari sama-sama melangkah, saling mendoakan, dan menjadi terang di jalan kita masing-masing, apa pun tantangan yang akan kita hadapi kelak..
3. Bou tersayang, yang telah kebersamai penulis sejak kecil dan mendukung setiap langkah penulis. Terima kasih untuk kasih sayang yang tak pernah berubah, doa, kebaikan, dan setiap perhatian tulus yang selalu menjadi penghiburan di tengah penat penulis.
4. Keluarga besar Pomparan Op. Christiani dan Pomparan Op. David. Terima kasih atas doa, kasih, dan dukungan yang tak pernah putus. Dari keluarga besar inilah penulis belajar tentang arti kebersamaan, kekuatan dalam doa, serta nilai-nilai hidup yang membentuk karakter hingga saat ini. Kehangatan dan semangat dari setiap anggota keluarga menjadi penyemangat tersendiri dalam perjalanan penulis menyelesaikan studi ini. Semoga Tuhan senantiasa memberkati dan menjaga seluruh keluarga besar dalam kasih dan penyertaan-Nya.
5. Ibu Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing I penulis. Terima kasih atas bimbingan, dukungan, dan kesabaran yang Ibu berikan selama proses penyusunan skripsi ini. Setiap saran, masukan, dan koreksi yang Ibu berikan tidak hanya memperkaya kualitas penelitian ini, tetapi juga membuka cara pandang penulis dalam berpikir ilmiah dan bertumbuh sebagai seorang akademisi. Ibu telah mendampingi penulis melewati berbagai tahap, dari kebingungan awal hingga tersusunnya karya ini, dengan kesabaran yang tak pernah luntur dan perhatian yang tulus. Bagi penulis, Ibu bukan hanya pembimbing, tetapi juga teladan yang mengajarkan arti kerja keras, ketelitian, dan kerendahan hati. Semoga segala kebaikan, ketulusan, dan dedikasi Ibu

dibalas berlipat ganda oleh Tuhan, serta menjadi sumber keberkahan dalam setiap langkah Ibu ke depan.

6. Bapak Prof. Ir. Suharso, S.Si., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing II penulis. Terima kasih atas bimbingan dan dukungan yang telah diberikan. Setiap arahan dan wawasan yang Bapak sampaikan menjadi bekal berharga yang tidak hanya membantu penyelesaian skripsi ini, tetapi juga menambah pengetahuan dan pengalaman penulis.
7. Bapak Prof. Dr. Eng. Suripto Dwi Yuwono, S.Si., M.T., selaku Dosen Pembahas penulis. Terima kasih atas waktu, perhatian, dan kesediaan Bapak memberikan masukan dan saran yang membangun. Setiap tanggapan yang Bapak berikan sangat berarti dan membantu penulis dalam memperbaiki, menyempurnakan, dan memperdalam pemahaman terhadap penelitian ini.
8. Ibu Prof. Dr. Buhani, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah meluangkan waktu serta memberikan bimbingan, nasihat, dan saran kepada penulis.
9. Ibu Prof. Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
10. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung yang dengan tulus telah membimbing, membagikan ilmu, motivasi dan teladan selama perkuliahan. Setiap pelajaran dan nasihat yang Bapak dan Ibu berikan menjadi bekal tak ternilai bagi perjalanan akademik dan kehidupan penulis.
11. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
12. Seluruh *staff* dan tenaga kependidikan Jurusan Kimia serta Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
13. *Girls Support Girls* — Angelia Patrecia Putri Tampubolon, Ladesti Maria Fransiska Manullang, Dhea Oktaria Simamora, Merry Stefani Ferin Sidabalok, Putri Rotua Sinaga, dan Martha Sarihon Situmorang. Terima kasih untuk persahabatan yang telah terjalin sejak kecil, untuk kebersamaan yang hangat, pesan-pesan tengah malam yang menjadi pelipur lara, tawa tanpa syarat, dan pelukan yang tak terlihat tapi selalu terasa. Kalian adalah bagian

dari hidup yang tak tergantikan, yang hadir bukan hanya di masa senang, tetapi juga saat dunia terasa berat. Semoga kita terus berjalan beriringan, saling mendukung dalam suka maupun duka, dan berbagi kebahagiaan di setiap musim kehidupan yang akan datang.

14. Rani Rasmani, teman yang telah menemani penulis sejak awal perkuliahan hingga akhir perjalanan ini. Terima kasih atas kebersamaan, dukungan, dan semangat yang selalu hadir di setiap langkah. Terima kasih atas kerja sama, saling membantu dalam perkuliahan maupun penelitian, serta kesediaan untuk berbagi suka dan duka selama menempuh studi. Kehadiranmu menjadi bagian berharga dari perjalanan ini, dan semoga segala kebaikan yang telah kamu tanamkan dibalas dengan kesuksesan dan kebahagiaan di masa depan.
15. Elis Yaya Roblox, teman yang pertama kali penulis temui saat maba di BNI, hingga menjadi sobat imobil. Terima kasih untuk setiap detik kebersamaan, mulai dari kebingungan di laboratorium, bertukar cerita, tawa dan air mata, *random videos on* TikTok, hingga akhirnya kita menyelesaikan perjuangan ini di hari yang sama. Terima kasih sudah mengizinkan kamar kosmu menjadi tempat singgah setiap kali penulis butuh istirahat. Tetaplah menjadi pribadi yang ceria seperti yang penulis kenal, karena kamu layak mendapatkan yang terbaik dalam hidup. Semoga setiap langkahmu selalu dipenuhi keberanian, diiringi doa dan cinta yang tulus, hingga sampai pada semua impian yang kamu perjuangkan.
16. Lansa Dwanis, terima kasih karena telah menjadi sosok yang begitu baik dan ramah, yang selalu menerima penulis apa adanya. Terima kasih sudah sering mengajak penulis jalan-jalan, memberi ruang untuk bernapas sejenak dari kepenatan tugas dan mengenalkan penulis pada tempat-tempat baru yang belum pernah penulis kunjungi. Terima kasih telah menjadi pribadi yang baik, sabar, dan tulus. Semoga kebaikanmu selalu kembali dalam bentuk yang berlipat dan jalanmu ke depan senantiasa diberkati.
17. Nur Khasanah, terima kasih telah menjadi teman yang menyenangkan di tengah kepadatan kuliah. Terima kasih telah menjadi tempat penulis berbagi cerita, tawa, bahkan keluh kesah. Dalam setiap obrolan sederhana, penulis menemukan semangat untuk kembali melangkah. Semoga pertemanan ini

tetap terjalin erat, dan segala kebaikan yang telah kamu tanamkan berbuah manis dalam hidupmu.

18. Teman satu penelitian — Rani Rasmani, Siti Nurkholisoh, Ni Luh Indrya Kusuma Dewi, Debora Luciana Manik, dan Alif Zidane Nugraha. Terima kasih atas setiap bantuan, kebersamaan, dan cerita yang kita bagi selama menjalani proses penelitian ini. Bersama kalian, hari-hari panjang di laboratorium terasa lebih ringan dan penuh warna. Penulis merasa sangat bersyukur bisa dipertemukan dengan teman-teman sebaik dan setulus kalian. Semoga langkah kita masing-masing selalu dimudahkan, dan suatu hari nanti kita dapat bertemu kembali sebagai pribadi yang telah sampai di puncak-puncak keberhasilan.
19. Ningsih, teman penulis yang dikenal melalui organisasi BEM. Terima kasih atas dukungan, canda, dan tawa yang selalu menghangatkan serta telah menjadi tempat berbagi cerita dan *partner* pergi ke berbagai agenda selama di BEM. Tetap menjadi pribadi yang ceria, penuh semangat, dan dikelilingi orang-orang baik dalam perjalanan meraih mimpi ya, Ning.
20. Kakak tingkat satu bimbingan penelitian, Anggun Nadhifahmia Azizah, S.Si., dan Najla Shauma Zahra, S.Si. Terima kasih atas ilmu dan saran yang diberikan kepada penulis selama mengerjakan penelitian ini.
21. Teman-teman Kimia angkatan 2021, khususnya kelas B, yang telah menjadi bagian dari perjuangan ini. Terima kasih atas canda, tawa, diskusi, dan pelajaran hidup yang tak ternilai selama empat tahun menempuh pendidikan.
22. Seluruh pihak yang telah membantu dan mendukung, baik secara langsung maupun tidak langsung, yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.
23. Terakhir, untuk diri penulis sendiri, Adelia Renta Marito Tampubolon. Terima kasih karena telah memilih untuk terus melangkah, bahkan ketika menyerah terasa lebih mudah. Terima kasih karena bertahan saat rasanya tak ada lagi kekuatan. Setiap malam penuh keraguan, setiap air mata yang jatuh, setiap lelah yang tak terucap, dan setiap doa yang terbisik dalam sunyi, semuanya menjadi bukti bahwa aku lebih kuat dari yang kukira. Terima kasih, Adel, karena telah bertahan sejauh ini, aku bangga pada diriku sendiri. Bagaimanapun kehidupanmu selanjutnya, hargai dirimu, rayakan dirimu, dan

berbahagialah atas segala proses yang telah berhasil dilalui. Teruslah percaya, teruslah melangkah. Peluk dirimu dengan bangga, dan jangan lupa: kamu layak untuk semua kebaikan yang akan datang.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat beberapa ketidaksempurnaan. Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan informasi, wawasan, dan ilmu yang bermanfaat untuk perkembangan ilmu pengetahuan di masa depan.

Bandar Lampung, 10 Agustus 2025
Penulis,

Adelia Renta Marito Tampubolon

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	6
1.3. Manfaat Penelitian	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Enzim	7
2.1.1. Mekanisme Kerja Enzim	7
2.1.2. Faktor yang Mempengaruhi Kerja Enzim	9
2.2. Enzim Lipase	10
2.3. Bakteri	13
2.3.1. <i>L. boronitolerans</i>	13
2.4. Imobilisasi	14
2.4.1 Faktor yang Mempengaruhi Imobilisasi.....	15
2.4.2 Teknik Imobilisasi.....	16
2.5. Silika	19
2.5.1. Sumber Biogenik Silika	20
2.6. Matriks Silika dari Daun Kelapa Sawit	22
2.7. Spektrofotometer UV-Vis	25
III. METODE PENELITIAN.....	22
3.1. Waktu dan Tempat	22
3.2. Alat dan Bahan	22
3.3. Prosedur Penelitian	23
3.3.1. Tahap Persiapan	23
3.3.2. Pembuatan Media	23
3.3.3. Peremajaan Bakteri Isolat <i>L. boronitolerans</i> LKM G1	24
3.3.4. Produksi Enzim Lipase	24
3.3.5. Pemurnian Enzim Lipase	25
3.3.6. Penentuan Aktivitas Lipase.....	26
3.3.7. Penentuan Kadar Protein Enzim Lipase	27
3.3.8. Imobilisasi Enzim Lipase dengan Matriks Silika	28

3.3.9. Penentuan Suhu Optimum Enzim Lipase Hasil Imobilisasi.....	29
3.3.10. Uji Stabilitas Lipase Hasil Imobilisasi terhadap Penggunaan Berulang.....	29
3.4. Skema Alur Penelitian	30
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	32
4.1. Bakteri <i>L. boronitolerans</i> LKM G1	32
4.2. Ekstrak Kasar Enzim Lipase dari <i>L. boronitolerans</i> LKM G1.....	32
4.2. Fraksi Enzim dengan Amonium Sulfat.....	33
4.3. Dialisis	35
4.4. pH Buffer Pengikatan Enzim Hasil Pemurnian dengan Matriks Silika dari Daun Kelapa Sawit	37
4.5. Suhu Optimum Enzim Hasil Pemurnian dan Hasil Imobilisasi pada Matriks Silika dari Daun Kelapa Sawit	39
4.6. Pemakaian Berulang Enzim Hasil Imobilisasi pada Matriks Silika dari Daun Kelapa Sawit	40
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	38
5.1. Simpulan.....	38
5.2. Saran	38
DAFTAR PUSTAKA.....	39
LAMPIRAN.....	49
Lampiran 1. Pembuatan Larutan Buffer.....	50
Lampiran 2. Kurva Standar <i>p</i> -Nitrofenol.....	52
Lampiran 3. Kurva Standar <i>Bovine Serum Albumin</i> (BSA).....	54
Lampiran 4. Perhitungan Aktivitas Enzim.....	55
Lampiran 5. Data Aktivitas Enzim Lipase dari <i>L. boronitolerans</i> LKM G1.....	56
Lampiran 6. Perhitungan Kadar Protein Enzim	57
Lampiran 7. Data Kadar Protein Enzim Lipase dari <i>L. boronitolerans</i> LKM G1	58
Lampiran 8. Perhitungan dan Data Aktivitas Spesifik Enzim Lipase dari <i>L. boronitolerans</i> LKM G1.....	58
Lampiran 9. Data pH Pengikatan Enzim dan Matriks Silika.....	59
Lampiran 10. Data Suhu Optimum Imobilisasi Lipase Menggunakan Matriks Silika.....	59
Lampiran 11. Data Penggunaan Berulang Enzim Hasil Imobilisasi pada Matriks Silika	60

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Model <i>lock and key</i>	8
2. Model <i>induced fit</i>	8
3. Reaksi hidrolisis oleh enzim lipase	12
4. Reaksi transesterifikasi oleh enzim lipase	12
5. Struktur tetrahedral silika	19
6. Morfologi silika dari daun kelapa sawit perbesaran 3.000×	24
7. Skema alur penelitian	30
8. Hasil peremajaan <i>L. boronitolerans</i> LKM G1	32
9. Grafik aktivitas unit enzim lipase hasil pemurnian dan hasil imobilisasi pada matriks silika dalam berbagai pH buffer	37
10. Grafik aktivitas unit enzim lipase hasil pemurnian dan hasil imobilisasi pada matriks silika dalam berbagai suhu	39
11. Grafik aktivitas sisa pemakaian berulang enzim hasil imobilisasi pada matriks silika	41
12. Kurva standar <i>p</i> -nitrofenol (<i>p</i> -NP)	53
13. Kurva standar <i>Bovine Serum Albumin</i> (BSA)	54
14. Uji aktivitas enzim lipase	55
15. Uji kadar protein enzim lipase (Lowry)	57
16. Imobilisasi enzim lipase pada matriks silika dari daun kelapa sawit	61

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil pemurnian enzim lipase dari <i>L. boronitolerans</i> LKM G1	35
2. Absorbansi <i>p</i> -nitrofenol (<i>p</i> -NP) pada berbagai konsentrasi	51
3. Absorbansi <i>Bovine Serum Albumin</i> (BSA) pada berbagai konsentrasi	53
4. Aktivitas lipase pada ekstrak kasar enzim, hasil fraksinasi, dan hasil dialisis.	55
5. Aktivitas lipase hasil pemurnian dalam berbagai pH.....	55
6. Hasil pengukuran aktivitas unit lipase hasil pemurnian dengan variasi suhu. 55	
7. Kadar protein lipase pada ekstrak kasar enzim, hasil fraksinasi, dan hasil dialisis.....	57
8. Data aktivitas spesifik lipase pada ekstrak kasar enzim, hasil fraksinasi, dan hasil dialisis	57
9. Hasil pengukuran aktivitas unit enzim lipase terimobil terhadap pH pengikatan enzim-silika	58
10. Hasil pengukuran enzim lipase terimobil dalam berbagai suhu.....	58
11. Aktivitas sisa penggunaan berulang enzim lipase hasil imobilisasi.....	59

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Enzim memainkan peran penting dalam memfasilitasi reaksi kimia. Penggunaan enzim sebagai biokatalis dalam berbagai proses pengolahan atau industri cenderung memiliki dampak kesehatan dan lingkungan yang lebih baik dibandingkan dengan penggunaan katalis kimia. Sebagai molekul biologi alami, enzim tidak menimbulkan polusi atau residu berbahaya dan memiliki harga yang cukup stabil, tidak seperti beberapa katalis logam. Penggunaan enzim dalam industri terus meningkat, mulai dari deterjen, makanan, kulit, kertas, kosmetik, farmasi, agrokimia hingga tekstil (Bié *et al.*, 2022). Salah satu enzim yang banyak digunakan dalam industri adalah enzim lipase.

Lipase termasuk dalam kelompok hidrolase yang dapat menghidrolisis triasilgliserol menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Reaksi ini melibatkan pemutusan ikatan ester yang terdapat dalam molekul lemak melalui penambahan air. Lipase dapat menghidrolisis ester menjadi asam lemak dan alkohol serta dapat berperan dalam reaksi transesterifikasi, di mana trigliserida diubah menjadi biodiesel dan gliserol dengan menggunakan alkohol. Lipase dapat dihasilkan dari tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme. Lipase yang dihasilkan dari mikroba cukup banyak dan dapat dilakukan dengan cepat sehingga biaya produksinya lebih terjangkau dibandingkan lipase yang berasal dari tumbuhan atau hewan (Khudhair *et al.*, 2024). Enzim lipase yang diproduksi dari bakteri banyak digunakan di berbagai sektor industri seperti makanan, susu, deterjen, tekstil, kosmetik, dan farmasi (Simamora dan Sukmawati, 2020).

Lipase dari mikroba telah banyak dilaporkan seperti lipase yang diproduksi dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan penambahan induser minyak jagung memiliki suhu optimum 40°C dan pH optimum 7 digunakan dalam pembuatan keju, yogurt, dan produk susu lainnya. Enzim lipase dari *Staphylococcus epidermidis* dengan memanfaatkan substrat *p*-nitrofenil palmitat memiliki aktivitas optimum pada suhu 70°C dan pH optimum 7 (Fatimah, 2021) serta digunakan sebagai biokatalis pada makanan, farmasi, kosmetik, dan industri deterjen (Hussain *et al.*, 2023). Riset lain telah mengidentifikasi *Mucor racemosus* sebagai penghasil enzim lipase dengan penggunaannya dalam industri keju. Isolat *Lysinibacillus sphaericus* L49a dari limbah lahan kelapa sawit diidentifikasi sebagai penghasil lipase dengan aktivitas tertinggi pada penambahan substrat minyak zaitun (Sumarsih *et al.*, 2024). Lipase dari *Candida antarctica* digunakan dalam sintesis produk kosmetik dan deterjen serta *Candida rugosa* lipase efektif dalam mengkatalisis reaksi seperti hidrolisis metil ester dengan penambahan pelarut organik dan transesterifikasi minyak kelapa sawit dengan metanol dan etanol (Hussain *et al.*, 2023).

Potensi enzim lipase untuk penggunaan industri belum sepenuhnya dimanfaatkan karena rendahnya stabilitas enzim dalam kondisi operasional yang tinggi, seperti masa simpan yang rendah, suhu lingkungan tinggi, pH ekstrem, keberadaan ion logam, pelarut atau surfaktan, dan kesulitan dalam daur ulang (Bié *et al.*, 2022). Enzim sangat mudah dipengaruhi oleh perubahan kondisi suhu dan pH. Perubahan kecil dalam kondisi lingkungan dapat mengubah aktivitas enzim secara signifikan sehingga berdampak pada kesehatan dan fungsi seluler enzim. Kontaminasi pada kestabilan enzim mungkin terjadi karena kesulitan pemisahan enzim setelah digunakan dalam reaksi. Hal ini menyebabkan pemakaian enzim hanya untuk satu kali reaksi. Agar dapat digunakan kembali, enzim perlu diikat pada padatan yang tidak larut dalam air (Wardoyo dan Kartika, 2017). Kestabilan enzim dapat ditingkatkan menggunakan tiga cara yaitu imobilisasi, modifikasi kimia, dan mutagenesis terarah. Imobilisasi enzim banyak digunakan hingga saat ini karena keunggulannya dalam pemakaian berulang dan produknya tidak terkontaminasi oleh enzim (Yandri dan Suhartati, 2018).

Imobilisasi dikenal sebagai teknik yang umum digunakan dalam bioteknologi untuk menempelkan enzim pada bahan pendukung dan *carrier* agar enzim berada pada posisi tetap selama reaksi berlangsung. Imobilisasi akan meningkatkan kinerja dan memperpanjang masa pakai enzim karena terlindungi dari lingkungan ekstrem dan memudahkan pemisahan enzim dari produk akhir (Alzahrani *et al.*, 2024). Pada penelitian ini, imobilisasi enzim lipase dilakukan dengan matriks silika dari daun kelapa sawit sebagai *carrier* imobilisasi.

Penelitian Nawani *et al.* (2006) telah mengoptimasi enzim lipase dari *Bacillus sp.* melalui imobilisasi menggunakan matriks silika. Uji aktivitas enzim menunjukkan bahwa imobilisasi lipase pada silika meningkatkan kondisi optimum kerja enzim. Enzim bebas memiliki suhu optimum 60°C dan pH optimum 8, sedangkan enzim hasil imobilisasi menunjukkan suhu optimum 65°C dan pH optimum 8,5. Enzim hasil imobilisasi tetap aktif hingga 20 kali siklus penggunaan berulang dengan aktivitas sisa sebesar 58%. Lipase hasil imobilisasi pada matriks silika menunjukkan efektivitas yang sangat tinggi pada siklus pertama dengan aktivitas relatif 100%, namun pada penggunaan kedua hingga ke-20 terjadi penurunan aktivitas enzim. Penurunan aktivitas ini disebabkan oleh terputusnya ikatan *Van der Waals* antara gugus hidrofobik enzim dan matriks silika.

Silika yang berasal dari bahan alam memiliki potensi yang besar untuk dikembangkan sebagai matriks imobilisasi karena ramah lingkungan dan tersedia melimpah. Beberapa sumber biomassa diketahui mengandung silika dalam kadar tinggi, seperti abu sekam padi sebesar 87-97% (AbuKhadra *et al.*, 2020), daun bambu sebesar 74% (Moraes *et al.*, 2019), jerami gandum sebesar 86% (Hernandez-Martínez *et al.*, 2020), bagas tebu sebesar 88% (Norsuraya *et al.*, 2016), dan daun kelapa sawit yang dilaporkan mengandung hingga 95,20% silika (Onoja *et al.*, 2017).

Daun pohon kelapa sawit secara khusus menjadi sumber silika terbaru yang menjanjikan karena kandungan silika yang relatif tinggi. Sebanyak 76% silika ditemukan di dalam abu buangan kelapa sawit dan sebanyak 46,0% di dalam abu kelapa sawit (Wong *et al.*, 2020). Daun kelapa sawit mengandung selulosa, hemiselulosa, lignin, dan tiga komponen utama yaitu Ca (39,20%), K (22,10%)

dan Si (19,20%) untuk abu sampel yang tidak diolah (Onoja *et al.*, 2017). Menurut Onoja *et al.* (2018) silika banyak dipilih sebagai matriks imobilisasi enzim karena memiliki stabilitas termal yang tinggi dan pori-pori silika memungkinkan penyerapan enzim secara efisien.

Penelitian Yudha *et al.* (2020) telah melaporkan daun kelapa sawit sebagai sumber potensial SiO₂. Silika dari daun kelapa sawit yang dihasilkan memiliki ukuran 325 mesh dan telah dimanfaatkan sebagai material pendukung untuk sintesis seperti TiO₂-SiO₂, CaSiO₃, borosilikat, komposit polianilin-silika, CeO₂-SiO₂, bismut silikat, komposit perak-silika, dan oksida besi-silika. Silika dari daun kelapa sawit ini belum dimanfaatkan sebagai matriks imobilisasi enzim khususnya enzim lipase.

Penelitian Jacob *and* Wahab (2022) telah memanfaatkan silika yang diekstrak dari daun kelapa sawit sebagai matriks imobilisasi untuk enzim lipase *Candida rugosa*. Silika dari daun kelapa sawit dipilih karena sifatnya yang amorf, luas permukaan yang tinggi, dan keberadaan gugus silanol yang reaktif sehingga memungkinkan interaksi dengan enzim melalui ikatan kimia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa matriks silika dari daun kelapa sawit mampu meningkatkan efisiensi imobilisasi hingga 72,34% dengan aktivitas spesifik enzim lipase mencapai 56,77 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ lebih tinggi dibandingkan dengan enzim bebas yang hanya mencapai 39,74 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$.

Penelitian Onoja *et al.* (2018) telah mengekstraksi silika dari daun kelapa sawit yang digunakan sebagai bahan pendukung imobilisasi enzim *Candida rugosa* lipase (CRL). CRL berhasil diimobilisasi ke dalam pendukung silika dengan modifikasi agen pengikat glutaraldehid sebagai pengikat silang pada matriks silika daun kelapa sawit. Hasil penelitian menunjukkan silika dari daun kelapa sawit berpotensi sebagai pembawa (*carrier*) untuk imobilisasi CRL dan berperan sebagai pengganti sumber silika konvensional. CRL hasil imobilisasi menunjukkan stabilitas operasional yang diperpanjang oleh retensi aktivitas sebesar 50% bahkan setelah 17 siklus esterifikasi berturut-turut. Penelitian ini akan digunakan sebagai dasar acuan dalam imobilisasi enzim lipase menggunakan matriks silika dari daun kelapa sawit.

Bakteri isolat lokal *L. boronitolerans* LKM G1 merupakan bakteri yang diisolasi dari fase mesofilik dalam proses pengomposan limbah domestik pada suhu 37°C (Fransiska, 2019). Lipase yang diproduksi dari bakteri *L. boronitolerans* LKM G1 telah dikarakteristik meliputi pH, suhu, pengaruh penambahan pelarut organik, dan ion logam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa lipase dari *L. boronitolerans* LKM G1 memiliki kondisi optimum pada pH 6 dan suhu 40°C. Aktivitas lipase meningkat pada penambahan pelarut *n*-heksana namun aktivitasnya menurun pada penambahan metanol dan benzena serta aktivitas lipase meningkat dengan penambahan ion logam Ba²⁺ dan Al³⁺ namun aktivitasnya menurun pada penambahan ion logam Na⁺, K⁺, Mg²⁺, dan Fe³⁺ (Nurhasanah *et al.*, 2023).

Penelitian Sari (2023) telah meneliti kestabilan lipase dari *L. boronitolerans* LKM G1 terhadap variasi pH, suhu, dan pelarut organik yang menunjukkan hasil pada variasi pelarut organik benzena, butanol, etil asetat, heksana, kloroform, dan metanol stabil pada waktu inkubasi 15-30 menit. Enzim lipase dari isolat lokal bakteri *L. boronitolerans* LKM G1 relatif stabil pada pH 6, suhu 40°C, dan pelarut heksana. Namun peningkatan aktivitas lipase melalui imobilisasi enzim menggunakan matriks silika dari daun kelapa sawit dan penentuan kondisi optimum lipase imobil belum dipelajari. Berdasarkan latar belakang, penelitian ini dilakukan untuk mempelajari kemampuan matriks silika dari daun kelapa sawit sebagai pendukung imobilisasi enzim lipase yang diproduksi dari bakteri *L. boronitolerans* LKM G1 serta mengkaji penentuan kondisi optimum proses imobilisasi enzim lipase dengan variasi pH dan suhu.

1.2. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mendapatkan enzim lipase dari *L. boronitolerans* LKM G1.
2. Mendapatkan kondisi optimum proses imobilisasi enzim lipase dari *L. boronitolerans* LKM G1 dengan matriks silika dari daun kelapa sawit meliputi pH dan suhu optimum.
3. Mengetahui aktivitas enzim lipase hasil imobilisasi.
4. Mengetahui kemampuan enzim lipase hasil imobilisasi untuk digunakan secara berulang pada reaksi hidrolisis.

1.3. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai kemampuan matriks silika dari daun kelapa sawit dalam meningkatkan kestabilan enzim lipase yang diproduksi dari *L. boronitolerans* LKM G1 melalui metode imobilisasi sehingga enzim dapat digunakan secara berulang.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Enzim

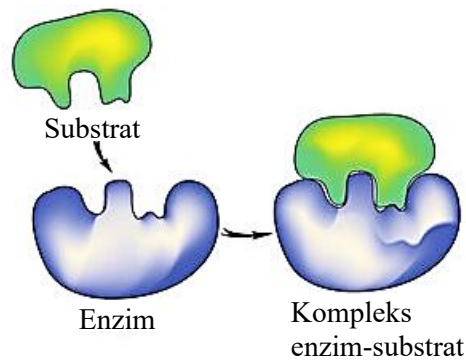
Enzim merupakan makromolekul yang memiliki aktivitas katalitik yang dapat menunjukkan spesifisitas, selektivitas, dan laju reaksi tinggi pada kondisi lingkungan yang tidak ekstrem sehingga banyak digunakan dalam berbagai bidang industri. Enzim atau biokatalis telah diterima secara luas di berbagai sektor karena sifatnya yang ramah lingkungan, proses produksi yang mudah, dan kemampuannya untuk bekerja secara spesifik pada substrat tertentu. Enzim dapat menurunkan energi aktivasi untuk terjadinya reaksi sehingga membuat keberlangsungan reaksi menjadi lebih mudah dan cepat. Enzim bersifat spesifik sehingga enzim hanya dapat bekerja terhadap substrat tertentu. Hal ini membuat enzim berbeda dengan katalis lain (non-enzimatis) yang dapat bekerja pada berbagai reaksi (Wening dan Herdyastuti, 2021).

2.1.1. Mekanisme Kerja Enzim

a. *Lock and Key*

Metode *lock and key* dikemukakan oleh Emil Fischer di mana terdapat kesesuaian bentuk yang sangat spesifik antara struktur substrat dengan geometri sisi aktif enzim, layaknya kunci yang hanya dapat membuka gembok tertentu seperti pada Gambar 1. Model ini menjelaskan sifat spesifisitas enzim yang sangat tinggi, di mana hanya substrat dengan bentuk yang tepat yang dapat masuk dan berikatan

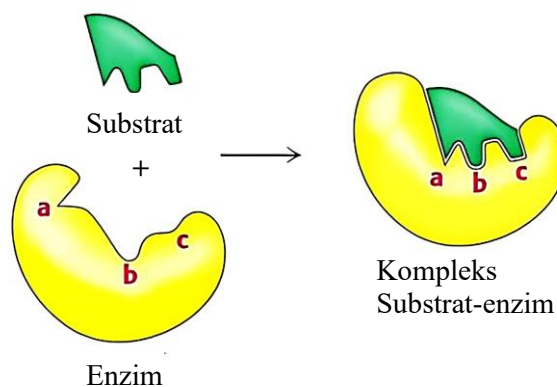
dengan sisi aktif enzim. Perubahan bentuk enzim sekecil apapun dapat menyebabkan ketidaksesuaian bentuk sehingga substrat tidak dapat masuk ke sisi aktif dan reaksi tidak berlangsung (Ischak dkk., 2017).



Gambar 1. Model *lock and key* (Ischak dkk., 2017)

b. *Induced Fit*

Metode *induced fit* dikemukakan oleh Daniel Koshland di mana sisi aktif enzim bukan struktur yang kaku, melainkan fleksibel dan mampu mengalami perubahan konformasi ketika substrat mulai mendekat dan berinteraksi seperti pada Gambar 2. Proses ini memungkinkan sisi aktif menyesuaikan bentuknya untuk membungkus atau mengakomodasi substrat dengan lebih baik, sehingga terjadi kecocokan yang optimal untuk pembentukan kompleks enzim-substrat. Perubahan konformasi ini meningkatkan kestabilan ikatan dan efisiensi katalitik enzim, serta menjelaskan mengapa beberapa enzim dapat bekerja pada substrat yang memiliki bentuk serupa namun tidak identik (Ischak dkk., 2017).



Gambar 2. Model *induced fit* (Ischak dkk., 2017)

2.1.2. Faktor yang Mempengaruhi Kerja Enzim

Menurut Ishack dkk (2017) aktivitas enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu:

a. Suhu

Pada suhu rendah, aktivitas enzim cenderung lambat karena pergerakan molekul yang lebih lambat. Apabila terjadi kenaikan suhu di atas suhu optimum, enzim akan terdenaturasi di mana situs aktif enzim akan terganggu dan kecepatan reaksi akan menurun.

b. pH

Enzim dapat berbentuk ion positif, ion negatif, atau ion bermuatan ganda (*zwitter ion*). Sebagian besar enzim hanya beroperasi secara efektif dalam rentang pH terbatas. Umumnya, pH optimum enzim sesuai dengan kondisi pH yang umumnya ditemui di lingkungan sekitar enzim.

c. Konsentrasi Enzim

Konsentrasi enzim mempengaruhi kecepatan suatu reaksi yang dikatalisis enzim. Bertambahnya kecepatan reaksi seiring dengan bertambahnya konsentrasi enzim pada konsentrasi substrat tertentu.

d. Konsentrasi Substrat

Konsentrasi substrat berhubungan dengan situs aktif enzim. Pada konsentrasi substrat rendah, situs aktif enzim hanya menampung sedikit substrat sehingga kecepatan reaksi akan kecil. Bertambahnya konsentrasi substrat menyebabkan makin besar kecepatan reaksi hingga tercapainya kondisi optimum.

e. Inhibitor

Adanya inhibisi dalam reaksi yang menggunakan enzim sebagai katalis akan menghambat pembentukan kompleks enzim-substrat (ES). Ion atau molekul yang menghambat reaksi dinamakan inhibitor. Hambatan oleh inhibitor dapat berupa hambatan reversibel atau hambatan tidak reversibel. Hambatan reversibel dapat berupa hambatan bersaing (*competitive inhibition*) yang disebabkan karena adanya molekul yang mirip dengan substrat dan dapat membentuk kompleks enzim-inhibitor (EI). Selain itu, hambatan reversibel juga dapat berupa hambatan tak bersaing (*non competitive inhibition*) yang tidak dipengaruhi oleh besarnya konsentrasi substrat dan inhibitor. Aktivitas ini terjadi di luar sisi aktif sehingga inhibitor bergabung dengan enzim bebas. Hambatan tidak reversibel terjadi karena reaksi antara inhibitor dengan bagian tertentu enzim tidak reversibel sehingga enzim mengalami perubahan bentuk. Dengan demikian, aktivitas katalitik enzim akan berkurang.

2.2. Enzim Lipase

Lipase (*triacylglycerol acyl hydrolase* EC 3.1.1.3) merupakan enzim golongan hidrolase yang mampu memecah triasilgliserol menjadi asam lemak bebas dan gliserol (Mazhar *et al.*, 2023). Enzim lipase banyak ditemukan dalam hewan, mikroorganisme, dan tumbuhan. Menurut Hussain *et al.* (2023) enzim lipase dikelompokkan berdasarkan sumbernya yaitu lipase dari tanaman, hewan, dan mikroba. Lipase tanaman melimpah dalam biji-bijian seperti almond, bunga matahari, biji gandum, sorgum, kelapa, jagung, dan wijen karena mengandung triasilgliserol dengan konsentrasi tinggi. Lipase yang diproduksi oleh sel hewan, dimanfaatkan untuk mencerna lemak dan lipid. Lipase pankreas banyak digunakan sebagai media penelitian kimia lipid dan biokimia, menunjukkan katalisis efisien dalam hidrolisis ester. Lipase mikroba yang berasal dari bakteri, jamur, dan ragi banyak dimanfaatkan dalam industri karena kemudahan produksi dan kemampuan adaptasi. Lipase bakteri dapat ditemukan pada beberapa bagian

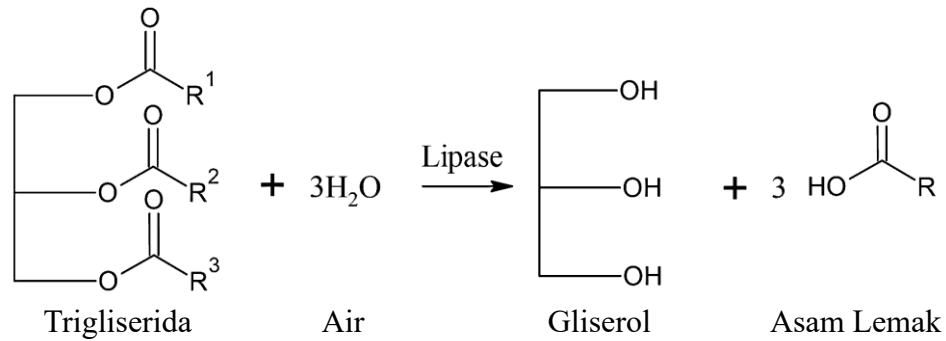
sel, seperti ekstraseluler, intraseluler, atau terikat pada membran. Lipase bakteri banyak diperoleh dari bakteri *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Lysinibacillus*, dan *Pseudomonas*. Lipase jamur dapat mengkatalisis berbagai reaksi seperti alkoholisis, asidolisis, deasetilasi, etanolisis, esterifikasi, dan saponifikasi. Lipase ragi dihasilkan dari *Candida antartica*, *Candida rugosa*, *Candida utilis*, dan *Saccharomyces sp.* dapat dimanfaatkan dalam transesterifikasi minyak kelapa sawit, produksi farmasi melalui asilasi dan alkoholisis, sintesis kosmetik dan deterjen melalui asidolisis minyak mentega dan asil gliserol.

Enzim lipase termasuk biokatalis yang banyak digunakan dalam bioteknologi dan bidang industri meliputi farmasi, oleokimia, kertas, produksi biodiesel, pembuatan deterjen, industri makanan, minuman, dan pertanian (Fatimah, 2021).

Kemampuan-kemampuan tersebut membuat lipase menarik untuk digunakan secara komersial. Proses katalisis reaksi tidak memerlukan kofaktor sehingga mudah diimobilisasi pada matriks yang berbeda (Sholeha dan Agustini, 2021).

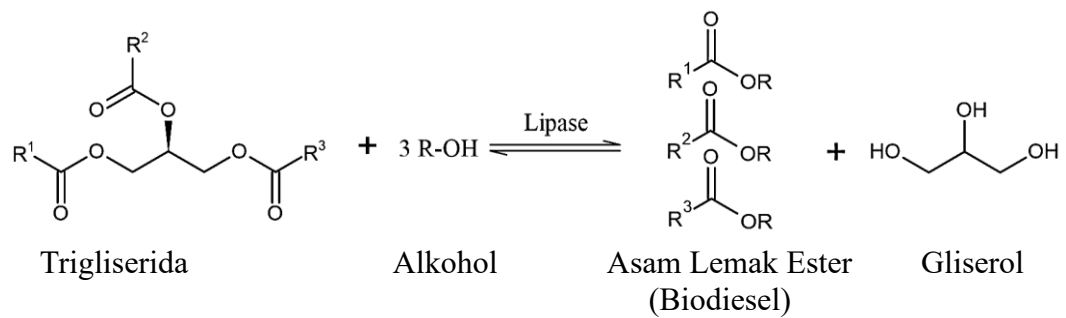
Menurut Fatimah (2021) lipase terlibat dalam reaksi konversi seperti, alkoholisis, aminolisis, asidolisis, esterifikasi, dan transesterifikasi yang terjadi dalam media berair dan pelarut organik. Aktivitas enzim lipase setiap satu unit per mL (U/mL) dapat membebaskan 1 μmol asam lemak bebas per menit. Aktivitas enzim lipase pada kondisi optimum diukur berdasarkan aktivitas enzimatis pada modifikasi suhu dan pH. Beberapa cara untuk menentukan aktivitas enzim meliputi metode *interfacial*, konduktometri, kromatografi, spektrofotometri, tensiometri, dan titrimetri.

Lipase bersifat termolabil, artinya enzim ini rentan terhadap suhu tinggi dan memerlukan kondisi suhu yang tepat agar dapat bekerja dengan baik dan menghasilkan produk yang optimal. Suhu reaksi yang terlalu tinggi dapat mendenaturasi struktur protein lipase. Sifat spesifik dan selektivitas lipase menunjukkan kemampuan efisiennya dalam mengkatalisis hidrolisis lemak menjadi asam lemak dan gliserol yang terlihat pada Gambar 3. Trigliserida terdiri dari satu molekul gliserol yang terikat dengan tiga molekul asam lemak melalui ikatan ester. Lipase memiliki situs aktif yang spesifik untuk substrat lemak seperti trigliserida sehingga ikatan ester dapat dihidrolisis (Sholeha dan Agustini, 2021).



Gambar 3. Reaksi hidrolisis oleh enzim lipase (Sholeha dan Agustini, 2021)

Lipase dari berbagai sumber telah diteliti untuk mengetahui kemampuannya dalam mengubah lipid menjadi biodiesel melalui imobilisasi enzim. Proses transesterifikasi melibatkan pemecahan trigliserida melalui reaksi hidrolisis. Namun, apabila terdapat alkohol dalam jumlah berlebih, lipase akan mengenali alkohol sebagai substrat yang menyebabkan lipase mengubah lipid menjadi biodiesel. Reaksi transesterifikasi yang dikatalisis lipase dapat dilihat pada Gambar 4 (Gumba *et al.*, 2016).



Gambar 4. Reaksi transesterifikasi oleh enzim lipase (Gumba *et al.*, 2016)

Lipase komersial memiliki harga yang tinggi karena proses produksinya sulit dan membutuhkan waktu yang cukup lama. Produksi lipase dengan harga yang lebih murah dapat dilakukan dengan memfermentasikan mikroba tertentu yang mampu menghasilkan enzim lipase (Hussain *et al.*, 2023).

2.3. Bakteri

Bakteri adalah organisme uniseluler yang tidak memiliki klorofil dan berkembang biak secara asexual melalui pembelahan sel atau biner. Bakteri dapat hidup secara bebas, parasitik, saprofitik, atau menjadi patogen pada manusia, tumbuhan, dan hewan. Habitat bakteri sangat luas di alam, meliputi tanah, lumpur, dan lautan, serta lingkungan ekstrem seperti sumber air panas dan lingkungan dengan salinitas tinggi. Bakteri umumnya memiliki bentuk dasar bulat (kokus), batang (basil), dan lengkung (spiral) dengan ukuran rata-rata antara 0,5 hingga 10 μm . Meskipun berukuran kecil, bakteri memiliki peran yang sangat penting dalam ekosistem. Bakteri juga memiliki kemampuan untuk membentuk spora sebagai respons terhadap kondisi lingkungan yang memungkinkan bakteri bertahan dalam keadaan ekstrem. Pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu suhu, derajat keasaman (pH), oksigen, nutrisi, cahaya, kelembaban, dan tekanan osmotik (Suryani dan Taupiqurrahman, 2021).

2.3.1. *L. boronitolerans*

Menurut Jamal and Ahmad (2022) *Lysinibacillus* secara umum ditemukan sebagai basil (batang) membentuk spora, berwarna putih atau putih krem, dan merupakan basil Gram positif yang masuk ke dalam filum *Firmicutes* dan famili *Bacillaceae*. *Lysinibacillus* memiliki potensi antimikroba termasuk antibiotik peptida dan bakteriosin. *Lysinibacillus* banyak dimanfaatkan sebagai agen untuk produk mikroba karena kemampuannya dalam membentuk endospora, yang memungkinkan bakteri bertahan dalam kondisi ekstrem. *Lysinibacillus* memiliki pH perkembangan maksimum pada pH 6-10 dengan pertumbuhan tertinggi antara pH 6 dan pH 8. *Lysinibacillus* dapat tumbuh dengan baik pada suhu antara 30-37°C, cukup baik antara 20-40°C, dan pertumbuhan paling sedikit pada suhu di bawah 20°C dan di atas 40°C.

L. boronitolerans memiliki panjang sel 3.0-5.0 μm dan diameter 0.8-1.5 μm . Koloni bakteri ini berbentuk lingkaran datar, buram, memiliki diameter 2-3 mm setelah 2 hari tumbuh di media NA pada suhu 37°C. *L. boronitolerans* dapat tumbuh pada suhu 16-45°C dengan suhu optimumnya pada 37°C, dan tidak tumbuh pada suhu di atas 50°C serta sedikit tumbuh pada suhu 16°C setelah ditumbuhkan beberapa hari. pH pertumbuhan optimal pada pH 7,0-8,0 dengan pertumbuhan awal yang paling cepat pada pH 7,5 tetapi tidak tumbuh pada pH 5. *L. boronitolerans* dapat menoleransi boron antara 0-100 mM dalam media agar, dengan pertumbuhan optimal tanpa adanya boron. Pada konsentrasi 150 mM boron, bakteri ini masih menunjukkan pertumbuhan meskipun terbatas setelah 2 hari inkubasi (Ahmed *et al.*, 2007).

2.4. Imobilisasi

Imobilisasi enzim merupakan metode peningkatan kestabilan enzim di mana enzim dipasangkan dengan bahan pendukung atau pembawa (*carrier*) sehingga menciptakan sistem imobilisasi yang heterogen. Metode ini membuat enzim dapat digunakan secara berkelanjutan karena mudahnya pemisahan enzim dari produk, sehingga reaksi lebih mudah terkontrol. Imobilisasi enzim dapat meningkatkan spesifisitas, selektivitas, penyimpanan, dan stabilitas enzim terhadap panas, pelarut organik, dan pH yang ekstrem dibandingkan dengan enzim lipase bebas sehingga menjadi metode yang tepat agar lipase dapat digunakan secara efektif dalam industri (Alzahrani *et al.*, 2024).

Adanya interaksi kimia atau fisik dengan bahan pendukung pada imobilisasi menyebabkan enzim tidak dapat bergerak bebas. Penggunaan bahan pendukung harus sesuai dengan metode imobilisasi dan aplikasi enzim yang diinginkan. Bahan pendukung imobilisasi terbagi menjadi dua jenis yaitu alam (organik) dan sintetis (anorganik). Bahan pendukung organik termasuk polistirena, protein, karagenan, polisakarida, dan polimer lainnya sedangkan bahan pendukung

anorganik yaitu mineral alam seperti silika, bentonit, kalsium alginat, dan karbon aktif (Wening dan Herdyastuti, 2021).

Untuk memastikan penggunaannya yang efisien dan hemat biaya, enzim perlu distabilkan agar dapat digunakan secara berulang. Kestabilan enzim dipelajari dengan menentukan waktu paruh enzim, yaitu waktu yang dibutuhkan enzim dalam pengurangan aktivitas hingga setengah dari aktivitas awalnya (Alzahrani *et al.*, 2024). Untuk meningkatkan stabilitas enzim, dapat dilakukan tiga cara yaitu imobilisasi, modifikasi kimia, dan mutagenesis terarah. Enzim imobil dapat digunakan berulang kali karena stabilitas enzim meningkat, produk tidak terkontaminasi oleh enzim, dapat digunakan untuk analisis, dan memudahkan proses pengendalian reaksi (Yandri dan Suhartati, 2018).

2.4.1 Faktor yang Mempengaruhi Imobilisasi

Metode imobilisasi dan bahan pembawa penting dalam imobilisasi enzim karena berperan dalam menentukan efisiensi, stabilitas, dan aktivitas enzim imobil.

Menurut Zhang *et al.* (2013) terdapat beberapa faktor penting yang mempengaruhi imobilisasi enzim yang dijelaskan sebagai berikut:

a. Pengaruh Metode Imobilisasi

Metode imobilisasi telah banyak dikembangkan untuk imobilisasi enzim dengan kelebihan dan kekurangan pada masing-masing metode. Pemilihan metode imobilisasi sangat mempengaruhi beberapa aspek penting dari kinerja enzim seperti aktivitas enzim, stabilitas enzim, pemakaian berulang enzim, kompatibilitasnya dengan lingkungan tertentu, dan efisiensi enzim dalam waktu yang lebih lama.

b. Pengaruh Pembawa (*Carrier*) Imobilisasi

Bahan pembawa imobilisasi bersifat harus tersedia, tidak beracun, dan memiliki kompatibilitas biologis yang baik untuk enzim karena bahan pembawa akan menjadi bagian dari enzim yang diimobilisasi sehingga sifat dan strukturnya sangat mempengaruhi sifat enzimatik. Beberapa bahan polimer alami seperti kitin, kitosan, pati, dan selulosa, bahan polimer sintesis seperti makroporus poliakrilamida dan polistirena serta material anorganik seperti silika, zeolit, nanopartikel magnetik $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, titanium dioksida (TiO_2), alumina (Al_2O_3), magnetit (Fe_3O_4), borosilikat, dan karbon aktif telah banyak digunakan sebagai pembawa imobilisasi.

c. Pengaruh Pemuatan Enzim

Pemuatan enzim yang berlebihan seringkali menyebabkan interaksi antara molekul protein kurang maksimal dan mengganggu fleksibilitas konformasi enzim. Hal ini dapat menghambat interaksi enzim dan dapat menginaktivasi enzim sehingga kemampuan enzim dalam menangkap molekul substrat dan melepaskan molekul produk tidak optimal, terutama dalam kondisi di mana enzim berada dalam kepadatan yang tinggi.

2.4.2 Teknik Imobilisasi

Teknik imobilisasi enzim terbagi menjadi dua yaitu imobilisasi secara fisika dan kimia. Imobilisasi secara fisika terdiri dari metode adsorpsi, penjebakan (*entrapment*), dan mikroenkapsulasi. Imobilisasi secara kimia terdiri dari metode ikatan kovalen, ikatan silang (*cross-linking*), dan ikatan ion.

1. Metode Fisika

a. Adsorpsi

Metode adsorpsi melibatkan pengikatan enzim pada bahan pendukung padat melalui interaksi lemah seperti gaya *Van der Waals*, ikatan hidrogen, dan interaksi hidrofobik. Enzim akan menempel pada permukaan bahan pendukung tanpa membentuk ikatan kovalen yang kuat (Alzahrani *et al.*, 2024). Matriks yang digunakan yaitu alumina, keramik, karbon aktif, bentonit, kaolin, kitosan, kaca berpori, selulosa, pati, gelatin, dan dekstran (Yandri dan Suhartati, 2018).

b. Penjebakan (*Entrapment*)

Metode penjebakan (*entrapment*) merupakan metode imobilisasi *irreversible* yang menyebabkan enzim terjebak secara fisik dalam jaringan polimer dengan jumlah yang terbatas. Pada metode ini, kemungkinan kebocoran dan keterbatasan transfer massa menjadi kekurangan yang signifikan dari metode *entrapment*. Kelebihan metode *entrapment* yaitu suhu pemrosesan relatif rendah, tidak melibatkan modifikasi kimia sehingga aktivitas enzim tetap terjaga, kemurniannya tinggi, dan enzim yang dibutuhkan sedikit. Bahan pendukung yang umum digunakan dalam metode ini yaitu alginat, gelatin, karagenan, kolagen, poliakrilamida, PVA, dan polimer lainnya (Wening dan Herdyastuti, 2021).

c. Mikroenkapsulasi

Metode mikroenkapsulasi melibatkan pengikatan enzim pada membran semi permeabel sehingga tidak menggerakkan enzim. Membran semi permeabel dapat bersifat permanen maupun non-permanen berdasarkan komponennya. Membran permanen terbuat dari polistiren dan selulosa nitrat sedangkan membran non-permanen terbuat dari surfaktan cair (Yandri dan Suhartati, 2018).

2. Metode Kimia

a. Ikatan Silang (*Cross-Linking*)

Metode *cross-linking* (pengikatan silang) melibatkan ikatan kovalen antara enzim dengan bahan pendukung. Umumnya teknik imobilisasi ini melibatkan dua langkah, yaitu pengendapan enzim dan pengikatan silang. Enzim diendapkan dalam endapan seperti amonium sulfat, etanol, tert-butanol, aseton, asetonitril, glikol, dan isopropanol. Setelah itu enzim diikat silang untuk membentuk agregat atau kristal enzim dengan ikatan silang CLEA (*cross linking enzyme aggregate*) dan CLEC (*cross linking enzyme crystal*). CLEA diperoleh dari pengendapan dan agregasi ikat silang akibat penambahan pelarut organik, asam, garam, atau polimer non ionik. CLEC diperoleh dari protein yang mengkristal (Wening dan Herdyastuti, 2021). Contoh pengikat silang yaitu polietilena, *benzoquinone*, *carbodiimide*, *dextran-polyaldehyde*, dan *glutaraldehyde*. Namun, kelemahan metode ini adalah mudahnya enzim terdenaturasi selama pengendapan karena tidak semua enzim tahan terhadap pelarut (Alzahrani *et al.*, 2024).

b. Ikatan Kovalen

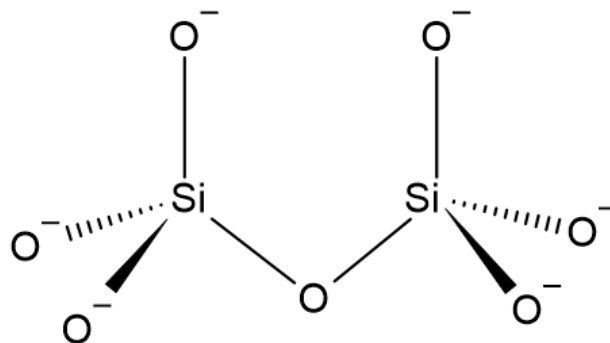
Molekul enzim berikatan langsung dengan gugus reaktif seperti gugus amida, hidroksil, karboksil, dan amino yang ada pada matriks. Metode ini umumnya menggunakan matriks berupa bahan alam seperti Sephadex, Sepharosa, kaca, dan Agarosa atau senyawa sintesis seperti stirena, akrilamida, dan asam metakrilat. Asam amino yang terlibat pada metode ini tidak berperan pada pusat maupun sisi aktif enzim sehingga meminimalkan perubahan konformasi struktur tiga dimensi enzim dan membantu meningkatkan kestabilan enzim imobil terhadap kondisi kimia dan fisik yang ekstrem (Yandri dan Suhartati, 2018).

c. Ikatan Ionik

Besarnya jumlah enzim yang terikat pada matriks dipengaruhi oleh tingginya kerapatan muatan permukaan pada matriks. Metode imobilisasi ini melibatkan interaksi ionik antara molekul enzim dengan matriks dan tidak jauh berbeda dengan metode adsorpsi fisik. Enzim yang terikat melalui interaksi ionik selama imobilisasi bergantung pada konsentrasi enzim, pH, dan suhu. Matriks yang umum digunakan yaitu polimer sintesis (polietilena, polistirena, dan vinilalkohol), turunan polisakarida (dekstran, dietilaminoetilselulosa, karboksimetilselulosa, dan kitosan), dan bahan anorganik (alumina, *amberlite*, bentonit, sepiolet, silika gel, dan silikat) (Yandri dan Suhartati, 2018).

2.5. Silika

Silika (SiO_2) merupakan senyawa anorganik yang terdiri dari satu atom silikon (Si) dan dua atom oksigen (O). Di alam, silika dapat ditemukan dalam bentuk amorf maupun kristalin, yang perbedaannya ditentukan oleh keteraturan susunan atomiknya. Bentuk amorf memiliki struktur tidak teratur dan tidak menunjukkan pola difraksi khas, sedangkan bentuk kristalin seperti kuarsa, tridimit, dan kristobalit menunjukkan keteraturan tinggi dalam struktur internalnya (Hasanah *et al.*, 2022). Struktur dasar silika tersusun atas unit tetrahedral SiO_4 , di mana satu atom silikon berada di pusat dan dikelilingi oleh empat atom oksigen yang membentuk ikatan kovalen dan dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Stuktur tetrahedral silika (Dizaji *et al.*, 2022)

Gambar 5 menunjukkan bahwa struktur tersebut merupakan unit dasar pembentuk jaringan tiga dimensi silika, baik dalam bentuk kristalin maupun amorf. Menurut Dizaji *et al.* (2022), dalam fase padat, unit-unit tetrahedral ini saling terhubung melalui atom oksigen bersama (*bridging oxygen*), sehingga dapat membentuk rantai, lapisan, atau kerangka tiga dimensi tergantung pada fase kristalnya. Silika juga dikenal memiliki stabilitas kimia yang tinggi, tidak larut dalam air dan sebagian besar pelarut asam, kecuali asam fluorida. Silika memiliki luas permukaan spesifik yang besar, terutama dalam bentuk amorf, sehingga banyak digunakan sebagai bahan adsorben, pendukung katalis, dan bahan fungsional lainnya.

2.5.1. Sumber Biogenik Silika

Biogenik silika adalah silika yang diperoleh dari biomassa atau limbah hayati yang mengandung kandungan silika alami. Sumber ini biasanya berasal dari bagian tumbuhan yang mampu menyerap silika dari tanah dan mengendapkannya di jaringan seluler, seperti daun, batang, dan sekam. Menurut Nugroho dan Yudha (2024) biogenik silika dapat diperoleh dari berbagai jenis biomassa, yang dapat dikelompokkan berdasarkan asalnya sebagai berikut:

a. Sekam Padi

Sekam padi merupakan limbah pertanian dari industri penggilingan padi dan memiliki kandungan silika yang tinggi. Sekitar 15% hingga 28% dari berat sekam padi terdiri atas silika. Setelah proses pembakaran menghasilkan abu sekam padi, kandungan silikanya meningkat secara signifikan, yaitu antara 87% hingga 97% dari berat kering. Kandungan silika yang tinggi ini menjadikan sekam padi sebagai salah satu sumber silika biogenik paling umum dan banyak diteliti, terutama karena keberadaannya yang melimpah di negara-negara penghasil beras seperti Indonesia, India, dan Tiongkok.

b. Salak

Kulit dan daun salak merupakan produk samping dari industri buah lokal yang ternyata juga memiliki kandungan silika tinggi. Kulit buah salak mengandung silikon sebesar 20,36%, disertai dengan unsur karbon (55,73%) dan oksigen (23,28%), serta unsur minor seperti klorin dan kalium. Sementara itu, pada daun salak, kandungan silika yang terdeteksi bahkan lebih tinggi, mencapai 98,7%, menjadikannya salah satu kandidat sumber silika biogenik yang sangat murni dan bernilai tinggi.

c. Bagas Tebu

Bagas tebu atau ampas tebu merupakan residu dari proses industri gula dan bioetanol. Bahan ini juga kaya akan kandungan silika. Abu hasil pembakaran bagas tebu mengandung silika sekitar 43% hingga 52% dari berat kering. Dengan perlakuan kimia sederhana, seperti pencucian menggunakan asam klorida (HCl), kandungan silika dalam abu bagas tebu dapat dimurnikan hingga mencapai lebih dari 95%. Proses pencucian dapat dilakukan baik sebelum maupun sesudah kalsinasi untuk menghilangkan pengotor logam atau senyawa lain yang menurunkan kemurnian silika.

d. Daun Bambu

Daun bambu juga dikenal sebagai salah satu sumber silika biogenik yang menjanjikan. Setelah mengalami proses kalsinasi, abu daun bambu dapat mengandung silika sekitar 70%. Kandungan ini dapat ditingkatkan lebih lanjut dengan perlakuan pencucian menggunakan HCl sebelum kalsinasi, yang berfungsi untuk menghilangkan senyawa organik dan mineral pengganggu lainnya. Selain kandungannya yang tinggi, kelebihan bambu adalah pertumbuhannya yang cepat dan penyebarannya luas. Terdapat lebih dari 125 spesies bambu yang tersebar di seluruh wilayah Indonesia, menjadikan daun bambu sebagai sumber biomassa yang sangat potensial.

e. Kelapa Sawit

Kelapa sawit, sebagai salah satu komoditas utama di Indonesia, menghasilkan berbagai limbah pertanian yang potensial sebagai sumber silika. Cangkang kelapa sawit dilaporkan mengandung silika sebesar 54,35% beserta campuran mineral lainnya. Selain itu, abu terbang (*fly ash*) yang dihasilkan dari pembakaran limbah kelapa sawit masih mengandung silika sekitar 19,18%. Tandan buah kosong (*empty fruit bunch/EFB*), yang merupakan limbah padat dari proses ekstraksi minyak sawit, juga memiliki kandungan silika tinggi, mencapai 45,6% setelah melalui proses ekstraksi. Tidak hanya itu, bagian vegetatif lainnya seperti daun kelapa sawit juga memiliki potensi luar biasa, dengan kandungan silika mencapai 95,3%. Potensi ini membuka peluang besar untuk pemanfaatan limbah daun sawit sebagai sumber silika berkemurnian tinggi dalam aplikasi industri dan lingkungan.

2.6. Matriks Silika dari Daun Kelapa Sawit

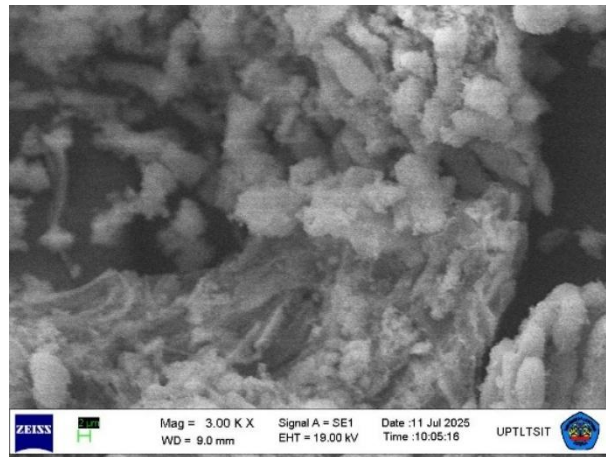
Pohon kelapa sawit per hektar perkebunan menghasilkan 10% minyak kelapa sawit dan 90% tersisa sebagai biomassa sekitar 50-70 ton. Biomassa ini terdiri dari batang kelapa sawit, pelepah kelapa sawit, tandan kosong kelapa sawit, daun kelapa sawit, limbah pabrik kelapa sawit, dan serat kelapa sawit (Onoja *et al.*, 2017). Beberapa bagian limbah biomassa kelapa sawit dapat dimanfaatkan dalam bentuk alami, sementara bagian lain memerlukan proses konversi secara kimia atau termokimia untuk menjadi produk akhir dengan nilai komersial. Pada daun kelapa sawit, terkandung hemiselulosa, selulosa, lignin, dan silika yang memiliki potensi dalam bidang industri (Onoja *et al.*, 2017).

Silika adalah zat anorganik dengan stabilitas kimiawi dan termal yang tinggi. Silika terdiri atas siloksan (Si-O-Si) dan silanol (Si-OH) yang dapat diaktifkan secara kimiawi menjadi ion hidroksil (OH^-) untuk dapat berinteraksi dengan molekul lain (Onoja and Wahab, 2020). Secara umum, silika ditemukan di kerak bumi dan muncul secara alami sebagai pasir atau kuarsa. Biomassa diketahui sebagai sumber potensial untuk ekstraksi komponen silika sintetis. Sumber daya

biomassa sebagai bahan baku silika meliputi daun kelapa sawit, abu sekam padi, ampas sorgum, ampas tebu, daun jagung, daun tebu, tongkol jagung, dan jerami gandum (Tessema *et al.*, 2023).

Silika bersifat hidrofilisitas (sifat daya serap air suatu bahan) dan silika toleran terhadap lingkungan (pH ekstrem dan pelarut organik) sehingga banyak digunakan sebagai adsorben (Kamal *et al.*, 2024). Silika digunakan sebagai material untuk menjaga enzim dan menjadi bahan pendukung anorganik dengan peringkat tertinggi sebagai pembawa imobilisasi enzim. Silika mesopori memiliki area permukaan yang relatif tinggi sehingga mendukung kemampuan pemerangkapan enzim (Onoja *et al.*, 2018). Matriks silika berbasis daun kelapa sawit perlu diaktivasi dan dimodifikasi guna meningkatkan aktivitasnya. Aktivasi dan modifikasi dapat dilakukan dengan kalsinasi, menggunakan larutan HCl, H₂SO₄, dan NaOH serta glutaraldehid (Onoja *et al.*, 2017).

Ekstraksi silika dari daun kelapa sawit telah dilakukan Yudha *et al.* (2020) di mana daun kelapa sawit bersih dan kering dihaluskan hingga berukuran 325 mesh. Pencucian (*leaching*) dengan asam kuat seperti HCl bertujuan untuk menghilangkan logam-logam pengotor. Residu dari tahap *leaching* kemudian dikalsinasi pada suhu 600-900°C selama 2-4 jam, dan didinginkan dalam furnace selama 12 jam hingga mencapai suhu ruang. Silika hasil ekstraksi dari daun kelapa sawit yang dianalisis menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) pada perbesaran 3.000 kali memiliki struktur morfologi yang tidak beraturan dengan permukaan yang kasar dan berpori serta memberikan indikasi bahwa silika memiliki luas permukaan yang cukup besar. Hasil morfologi permukaan silika dari daun kelapa sawit dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Morfologi silika dari daun kelapa sawit perbesaran 3.000×

Onoja *et al.* (2017) berhasil mengekstraksi silika dari daun kelapa sawit. Serbuk daun kelapa sawit diberi perlakuan dengan asam dan panas. Perlakuan dengan asam menggunakan HCl untuk pelindian atau pencucian pada serbuk daun kelapa sawit untuk menghasilkan silika lebih maksimal disertai pemanasan pada penangas dilengkapi *magnetic stirrer*. Proses pelindian diakhiri dengan penyaringan dan pengeringan silika dari daun kelapa sawit dalam oven selama 24 jam. Silika dari daun kelapa sawit kemudian diaktivasi melalui kalsinasi pada suhu 600°C selama 9 jam.

Onoja *et al.* (2018) ; Onoja and Wahab (2019) ; Onoja and Wahab (2020) telah mengekstraksi nanosilika dari abu daun kelapa sawit dan dimanfaatkan sebagai bahan pendukung untuk imobilisasi enzim *Candida rugosa* lipase (CRL). Sekitar 80% CRL berhasil diimobilisasi ke permukaan pendukung nano yang menghasilkan pemuatan protein maksimum dan aktivitas spesifik masing-masing $67,5 \pm 0,72$ mg/g dan $320,8 \pm 0,42$ U/g. CRL yang telah diimobilisasi pada matriks silika termodifikasi glutaraldehid dan *magnetite nanoparticles* (MNPs) mampu mempertahankan 50% dari aktivitas awalnya setelah 17 siklus esterifikasi berturut-turut.

2.7. Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis merupakan instrumen kimia yang digunakan untuk mengukur serapan dari sampel menggunakan sinar ultraviolet (UV) dengan panjang gelombang 200-400 nm dan sinar tampak (*visible*) pada panjang gelombang 400-750 nm. Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis yaitu penyerapan sinar yang diteruskan pada panjang gelombang tertentu. Intensitas sinar yang diserap berbanding lurus dengan konsentrasi zat, di mana semakin besar konsentrasi zat dalam sampel, maka semakin banyak cahaya yang diserap, sehingga memungkinkan analisis kuantitatif berdasarkan nilai absorbansi yang terukur (Wahyuni dkk., 2022).

Terdapat dua metode analisis kuantitatif pada spektrofotometer UV-Vis yaitu dengan metode adisi standar dan metode kurva kalibrasi. Untuk mengetahui kadar suatu sampel, metode kurva kalibrasi banyak digunakan. Analisis dilakukan dengan memasukkan nilai absorbansi sampel ke persamaan regresi linear dari pembacaan absorbansi larutan standar. Untuk memperoleh hasil yang akurat, pengukuran biasanya dilakukan pada panjang gelombang maksimum (λ maks) dari zat yang dianalisis, karena pada titik ini absorbansi tertinggi dan perubahan kecil pada konsentrasi dapat terdeteksi secara sensitif (Sulistiyani dkk., 2023).

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari sampai dengan Mei 2025 di Laboratorium Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung, Bandar Lampung.

3.2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi *magnetic stirrer CB 161 Stuart* (Jerman), *hot plate Stuart* (Jerman), pH meter *Mobile 827 Metrohm* (Swiss), *centrifuge Hermle Z327K* (Jerman), neraca analitik *DJ-V220A Lucky* (Cina), oven *T60 Heraeus* (Jerman), inkubator *Precistern P selecta* (Spanyol), *shaker Labtech LSI 1 EDAM 97* (Jerman), *autoclave GEA LS-35 L EDWM 63* (Cina), *waterbath Memmert W 350* (Jerman), *Laminar Air Flow (LAF) Airtech HVS-1300* (Cina), *ultra low temperature freezer lab freez* (Cina), spektrofotometer UV-Vis *Shimadzu UV-1780* (Cina), *spin bar*, termometer, corong gelas, batang pengaduk, tabung reaksi, gelas beaker, gelas ukur, Erlenmeyer, tabung sentrifuga, pipet tetes, spatula, jarum ose, rak tabung reaksi, mikropipet *Eppendorf*, mikrotip, dan bunsen.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bakteri lokal *L. boronitolerans* LKM G1 yang berasal dari pengomposan limbah domestik, matriks silika dari daun kelapa sawit hasil ekstraksi oleh tim penelitian

Universitas Bengkulu, *Nutrient Agar* (NA) *Merck*, *Nutrient Broth* (NB) *Merck*, amonium sulfat *Merck*, akuades, *tween* 80, minyak kelapa sawit, minyak zaitun Bertolli, NaH_2PO_4 , Na_2HPO_4 , aseton, etanol, *n*-heksana, Na_2CO_3 , NaOH , $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, Na-K tartrat, reagen *Folin ciocelteau*, *Bovine Serum Albumin* (BSA), *p*-nitrofenil palmitat (*p*-NPP), *p*-nitrofenol (*p*-NP), isopropanol, *gum arabic*, Triton X-100, buffer Tris-HCl, kapas, kain kasa, *aluminium foil*, dan plastik *wrap*.

3.3. Prosedur Penelitian

Prosedur yang dilakukan dalam penelitian ini di antaranya tahap persiapan, pembuatan media, peremajaan bakteri isolat lokal *L. boronitolerans* LKM G1, produksi enzim lipase, pemurnian enzim lipase, dan imobilisasi enzim lipase menggunakan matriks silika dari daun kelapa sawit.

3.3.1. Tahap Persiapan

Alat-alat gelas yang akan digunakan dicuci bersih, dikeringkan, dan disterilisasi dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

3.3.2. Pembuatan Media

a. Pembuatan Media Agar Miring

Media padat yang digunakan untuk meremajakan isolat bakteri adalah *Nutrient Agar* (NA). Media dibuat dengan menimbang 2 gram NA dan dilarutkan dalam 100 mL akuades pada Erlenmeyer lalu dipanaskan hingga larut. Media yang telah

larut dituang ke dalam tabung reaksi steril sebanyak 4,5 mL, lalu ditutup dengan sumbat dan disterilkan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah disterilisasi, media disimpan dalam posisi miring hingga agar mengeras (Rait dkk., 2022).

b. Pembuatan Media Cair

Media cair yang digunakan sebagai media *starter* dan media fermentasi adalah *Nutrient Broth* (NB). Media dibuat dengan menimbang 8 gram NB, dilarutkan dalam 1000 mL akuades, ditambahkan 2% minyak kelapa sawit, 20 tetes *tween* 80, dan 2% mL minyak zaitun. Media disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit, kemudian ke dalam media ditambahkan 3% mL *n*-heksana (Nurhasanah *et al.*, 2023).

3.3.3. Peremajaan Bakteri Isolat *L. boronitolerans* LKM G1

Sebanyak satu ose isolat bakteri *L. boronitolerans* LKM G1 diinokulasikan secara *zig-zag* pada permukaan media NA miring kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C (Rait dkk., 2022).

3.3.4. Produksi Enzim Lipase

Bakteri *L. boronitolerans* LKM G1 yang telah diremajakan diambil sebanyak tiga ose dan diinokulasi ke dalam 20 mL media *starter* NB lalu diinkubasi pada *shaker* dengan kecepatan 150 rpm selama 24 jam. Sebanyak 2% media *starter* dipindahkan ke media fermentasi kemudian diinkubasi pada *shaker* dengan kecepatan 150 rpm selama 48 jam. Media fermentasi yang berisi isolat bakteri *L. boronitolerans* LKM G1 disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 15

menit. Ekstrak kasar enzim lipase yang diperoleh kemudian ditentukan aktivitas dan kadar protein enzim (Nurhasanah *et al.*, 2023).

3.3.5. Pemurnian Enzim Lipase

Ekstrak kasar enzim lipase yang telah diproduksi kemudian dimurnikan secara parsial dengan cara fraksinasi amonium sulfat dan dialisis. Pemurnian enzim lipase dilakukan dengan tahapan berikut:

a. Fraksinasi Amonium Sulfat

Proses pemurnian ekstrak kasar enzim lipase diawali dengan fraksinasi menggunakan amonium sulfat dengan tingkat kejenuhan 20-80%. Fraksinasi dilakukan dengan menambahkan amonium sulfat sedikit demi sedikit ke dalam larutan enzim ekstrak kasar sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. Pengadukan diusahakan sedemikian rupa sehingga tidak menimbulkan busa. Setiap endapan protein enzim yang didapat lalu dipisahkan dari filtratnya dengan sentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 20 menit, kemudian endapan dibilas dengan buffer fosfat 0,25 M pH 7 (Nurhasanah *et al.*, 2023).

b. Dialisis

Enzim yang telah dimurnikan dengan fraksi amonium sulfat dimasukkan ke dalam kantong selofan dan direndam dalam buffer fosfat 0,01 M pH 7. Proses dialisis dilakukan menggunakan *stirrer* selama 24 jam pada suhu rendah 4°C untuk mencegah denaturasi enzim. Selama proses ini, pergantian buffer fosfat dilakukan setiap 4-6 jam untuk mengurangi konsentrasi ion-ion di dalam kantong dialisis, sehingga memungkinkan enzim untuk berinteraksi dengan lingkungan yang lebih stabil. Proses ini dilakukan secara kontinu sampai ion-ion di dalam kantong dialisis dapat diabaikan. Enzim yang telah dimurnikan ditentukan aktivitas dan kadar proteinnya (Nurhasanah *et al.*, 2023).

3.3.6. Penentuan Aktivitas Lipase

a. Kurva Standar *p*-nitrofenol (*p*-NP)

Kurva *p*-nitrofenol (*p*-NP) 0,01 M dibuat dengan ditimbang 14 mg *p*-NP dan dilarutkan dalam 10 mL akuades. Larutan *p*-NP merupakan larutan stok untuk pembuatan larutan dengan konsentrasi yang lebih kecil. Pada penelitian ini, digunakan deret konsentrasi standar 0 μ M, 100 μ M, 300 μ M, 500 μ M, 700 μ M, 900 μ M, 1100 μ M, dan 1300 μ M.

b. Uji Aktivitas Lipase

Penentuan aktivitas hidrolisis enzim lipase ditentukan menggunakan substrat *p*-nitrofenil palmitat (*p*-NPP) berdasarkan metode spektrofotometri. Larutan A dibuat dengan cara 15 mg *p*-NPP dilarutkan dalam 5 mL isopropanol, kemudian dibuat larutan B dengan cara 0,05 gram *gum arabic* dan 0,2 mL Triton X-100 dilarutkan ke dalam buffer Tris-HCl 50 mM pH 8,0. Larutan A dan larutan B dicampurkan lalu dihomogenkan hingga volume akhir 50 mL (Nurhasanah *et al.*, 2023).

Aktivitas enzim lipase ditentukan dengan cara sebanyak 1,8 mL substrat *p*-NPP dicampurkan dengan 0,2 mL enzim lipase, kemudian diinkubasi selama 15 menit, lalu ditambahkan 0,2 mL aseton:etanol (1:1). Larutan kontrol negatif dibuat dengan ditambahkan 0,2 mL aseton:etanol (1:1) ke dalam enzim untuk mengaktivasi enzim sebelum diinkubasi. Pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 410 nm. Aktivitas lipase dihitung berdasarkan Persamaan 1 dan Persamaan 2 sebagai berikut (Gupta *et al.*, 2002):

$$\text{Konsentrasi } p\text{-NP} = \frac{\text{Abs}-b}{a} \quad (\text{Persamaan 1})$$

$$\text{Aktivitas lipase (U/mL)} = \frac{\mu\text{mol } p\text{-NP}}{t \text{ (waktu)}} \times \text{FP} \quad (\text{Persamaan 2})$$

Keterangan:

$\mu\text{mol } p\text{-NP}$	: Konsentrasi $p\text{-NP}$
t	: Waktu reaksi
FP	: $\frac{\text{Volume total}}{\text{Volume enzim}}$
Status aktivitas enzim	: $\frac{\mu\text{mol/menit}}{\text{mL}}$
a	: Slope
b	: Intersep

3.3.7. Penentuan Kadar Protein Enzim Lipase

Penentuan kadar protein dilakukan berdasarkan metode Lowry (Lowry *et al.*, 1951 ; Muyassaroh dkk., 2020) menggunakan beberapa pereaksi sebagai berikut:

Pereaksi A	: 2 gram Na_2CO_3 dilarutkan dalam 100 mL NaOH 0,1 N
Pereaksi B	: 5 mL $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1% ditambahkan ke dalam 3 mL larutan Na/K tartrat 1%
Pereaksi C	: 2 mL pereaksi B ditambahkan dengan 100 mL pereaksi A
Pereaksi D	: Reagen <i>folin ciocelleau</i> diencerkan dalam akuades 1:1
Larutan standar	: Larutan <i>Bovine Serum Albumin</i> (BSA)

Pengukuran kadar protein enzim lipase ditentukan menggunakan metode *Lowry*. Sebanyak 0,1 mL enzim lipase ditambahkan dengan 0,9 mL akuades dan direaksikan dengan 5 mL pereaksi C. Campuran dihomogenkan dan dibiarkan selama 10 menit pada suhu ruang. Setelah itu ditambahkan 0,5 mL pereaksi D, campuran kembali dihomogenkan, dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 750 nm. Sebagai kontrol 0,1 mL enzim digantikan dengan 0,1 mL akuades dan diperlakukan yang sama seperti sampel. Penentuan kadar protein enzim dilakukan dengan mengacu pada kurva standar BSA dengan deret

konsentrasi bertingkat BSA 0 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm, dan 140 ppm.

3.3.8. Imobilisasi Enzim Lipase dengan Matriks Silika

a. Penentuan pH Pengikatan Enzim Lipase pada Matriks Silika

Sebanyak 0,25 gram matriks silika dari daun kelapa sawit dimasukkan ke dalam tabung sentrifugasi, kemudian distabilkan menggunakan buffer fosfat atau buffer Tris-HCl 0,1 M dengan variasi pH 6, 6,5, 7, 7,5, 8, dan 8,5 (buffer Tris-HCl digunakan untuk pH 8 dan 8,5). Kemudian disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 5000 rpm, lalu matriks dipisahkan dari supernatan dan ditambahkan dengan 0,5 mL enzim lipase dan 0,5 mL buffer sesuai variasi pH masing-masing. Sampel diaduk selama 30 menit untuk memaksimalkan pengikatan, kemudian disentrifugasi kembali selama 15 menit pada kecepatan 5000 rpm. Supernatan enzim dipisahkan dari matriks untuk dijadikan sebagai kontrol dan matriks-enzim ditentukan aktivitasnya. pH buffer yang menunjukkan aktivitas tertinggi pada matriks dalam proses pengikatan enzim ditetapkan sebagai pH buffer pengikatan enzim-matriks (Yandri *et al.*, 2023).

b. Imobilisasi Enzim Lipase

Imobilisasi enzim lipase dilakukan secara adsorpsi menggunakan matriks silika dari daun kelapa sawit. Sebanyak 0,25 gram matriks silika daun kelapa sawit distabilkan dengan buffer 0,1 M pH pengikatan optimum lalu disentrifugasi selama 15 menit. Kemudian, ditambahkan 0,5 mL enzim hasil dialisis dan 0,5 mL buffer pengikatan. Sampel diaduk selama 30 menit, lalu disentrifugasi selama 15 menit (Yandri *et al.*, 2023). Supernatan dipisahkan untuk dijadikan kontrol, lalu ke dalam matriks-enzim ditambahkan 1,8 mL substrat *p*-NPP dan diinkubasi selama 15 menit. Sampel ditambahkan dengan 0,2 mL aseton:etanol lalu diukur aktivitas enzim.

3.3.9. Penentuan Suhu Optimum Enzim Lipase Hasil Imobilisasi

Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim lipase hasil imobilisasi dilakukan pada pH optimum imobilisasi dengan menggunakan variasi suhu, yaitu 30, 35, 40, 45, 50, dan 55°C selama 15 menit pada masing-masing variasi suhu, kemudian diuji aktivitas enzim lipase menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 410 nm. Uji aktivitas dilakukan dengan cara 1,8 mL substrat *p*-NPP ditambahkan ke dalam enzim-matriks, kemudian diinkubasi selama 15 menit, dan ditambahkan 0,2 mL aseton:etanol (1:1) (Nurlinda, 2024).

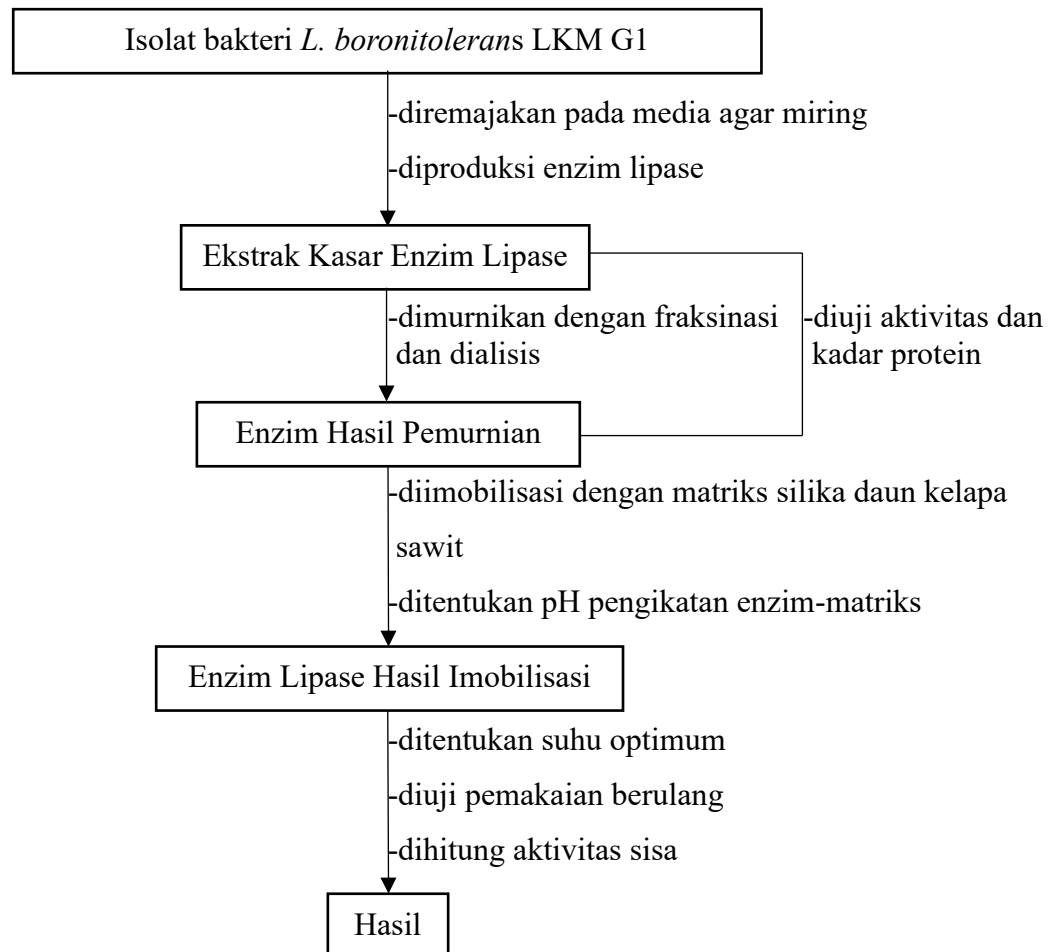
3.3.10. Uji Stabilitas Lipase Hasil Imobilisasi terhadap Penggunaan Berulang

Stabilitas enzim diuji dengan mengukur aktivitas enzim lipase secara berulang. Enzim imobil yang telah dipakai (direaksikan dengan substrat) dicuci dengan buffer 0,1 M pH pengikatan optimum lalu disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 5000 rpm. Kemudian enzim imobil direaksikan dengan 1,8 mL substrat *p*-NPP baru melalui prosedur imobilisasi yang sama. Aktivitas enzim lipase imobil diukur setiap kali dilakukan reaksi. Prosedur ini dilakukan setiap rentang waktu 24 jam hingga enzim imobil kehilangan 50% dari aktivitas awal. Saat enzim imobil digunakan berulang, aktivitasnya dapat berkurang dan tetap memiliki sejumlah aktivitas yang dapat diukur (aktivitas sisa). Menurut Angsari dan Agustini (2020), penentuan aktivitas sisa setelah penggunaan berulang enzim dapat ditentukan menggunakan Persamaan 3 sebagai berikut:

$$\text{Aktivitas sisa (\%)} = \frac{\text{Aktivitas setelah penggunaan berulang (U)}}{\text{Aktivitas sebelum penggunaan berulang (U)}} \times 100\% \text{ (Persamaan 3)}$$

3.4. Skema Alur Penelitian

Tahap-tahap yang akan dilakukan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Skema alur penelitian

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Aktivitas spesifik enzim lipase hasil pemurnian dari *L. boronitolerans* LKM G1 sebesar 3484,35 U/mg dan kemurniannya meningkat 2,36 kali dibandingkan ekstrak kasar enzim dengan perolehan 16,15%.
2. Enzim lipase hasil imobilisasi memiliki aktivitas hidrolisis optimum pada pH pengikatan enzim-matriks pH 8, suhu 45°C, dan waktu inkubasi 15 menit.
3. Aktivitas unit enzim lipase hasil imobilisasi pada kondisi optimum sebesar 387,666 U/mL.
4. Enzim lipase hasil imobilisasi menunjukkan kemampuan penggunaan berulang hingga 3 kali siklus reaksi hidrolisis, dengan aktivitas unit dan aktivitas sisa masing-masing pada penggunaan pertama sebesar 473,166 U/mL (100%), penggunaan kedua sebesar 383 U/mL (80,9%), dan penggunaan ketiga sebesar 288,333 U/mL (60,9%).

5.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan modifikasi pada matriks imobilisasi menggunakan *crosslinking agent* untuk meningkatkan kestabilan enzim selama pemakaian berulang.

DAFTAR PUSTAKA

- AbuKhadra, M.R., Mohamed, A.S., El-Sherbeeney, A.M., and Elmeligy, M.A. 2020. Enhanced Photocatalytic Degradation of Acephate Pesticide over MCM-41/Co₃O₄ Nanocomposite Synthesized from Rice Husk Silica Gel and Peach Leaves. *Journal of Hazard Mater.* 389(1): 1-11.
- Ahmed, I., Yokota, A., Yamazoe, A., and Fujiwara, T. 2007. Proposal of *Lysinibacillus boronitolerans* gen. nov. sp. nov., and Transfer of *Bacillus fusiformis* to *Lysinibacillus fusiformis* comb. nov. and *Bacillus sphaericus* to *Lysinibacillus sphaericus* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 57(5): 1117–1125.
- Akram, M., Rehman, U., Ahmed, M., and Umaru, I. J. 2025. Exploring the Dynamics of Enzyme Activity: Environmental and Biological Influences. *African Journal of Biochemistry and Molecular Biology Research*. 2(2): 125-134.
- Ali, Z., Tian, L., Zhang, B., Ali, N., Khan, M., and Zhang, Q. 2017. Synthesis of fibrous and non-fibrous mesoporous silica magnetic yolk-shell microspheres as recyclable supports for immobilization of *Candida rugosa* lipase. *Enzyme and Microbial Technology*. 103(2017): 42-52.
- Almeida, C. S., Neto, F. S., Sousa, P. S., Aires, F. I. S., Filho, J. R. M., Cavalcante, A. L. G., Junior, P. G. S., Melo, R. L. F., and Santos, J. C. S. 2024. Enhancing Lipase Immobilization via Physical Adsorption: Advancements in Stability, Reusability, and Industrial Applications for Sustainable Biotechnological Processes. *ACS Omega*. 47(9): 46698-46732.
- Alzahrani, F., Akanbi, T. O., Scarlett, C. J., and Aryee, A. N. A. 2024. The Use of Immobilised Enzymes for Lipid and Dairy Processing and Their Waste Products: A Review of Current Progress. *Processes*. 12(4): 1-21.
- Angsari, T. F. dan Agustini, R. 2020. Pengaruh Variasi Konsentrasi Amilase dari Kedelai (*Glycine max L.*) dan Natrium Alginat sebagai Matriks Enzim terhadap Efektivitas Imobilisasi. *UNESA Journal of Chemistry*. 9(3): 203-211.
- Arumugam, S., Karuppasamy, G., and Jegadeesan, G.B. 2018. Synthesis of Mesoporous Materials from Bamboo Leaf Ash and Catalytic Properties of Immobilized Lipase for Hydrolysis of Rubber Seed Oil. *Materials Letter*. 225(2018): 1-12.

- Bié, J., Sepodes, B., Fernandes, P. C. B., and Ribeiro, M. H. L. 2022. Enzyme Immobilization and Co-Immobilization: Main Framework, Advances and Some Applications. *Processes*. 10(3): 1-31.
- Dizaji, H.B., Zeng, T., Holzig, H., Bauer, J., Klob, G., and Enke, D. 2022. Ash Transformation Mechanism During Combustion of Rice Husk and Rice Straw. *Fuel*. 307(2022): 1-18.
- Faizul, C. P., Abdullah, C., Fazlul, B., and Noorina, H. J. 2014. Extraction of Silica from Palm Ash using Organic Acid Leaching Treatment. *Key Engineering Materials*. 594–595(2013): 329–333.
- Fatimah, E. 2021. Review Artikel: Karakteristik dan Peranan Enzim Lipase pada Produksi Diacylglycerol (DAG) dari Virgin Coconut Oil (VCO). *Unesa Journal of Chemistry*. 10(3): 246–256.
- Firdaus., Dali, S., dan Rusman, H. J. 2017. Imobilisasi Enzim Lipase Dedak Padi (*Oryza Sativa L.*) pada Karbon Aktif: Karakterisasi, dan Uji Stabilitas Kerja Enzim Imobil. *Indo. J. Chem. Res.* 5(1): 32–36.
- Fransiska, L. 2019. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Lipolitik pada Proses Pengomposan Limbah Domestik. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Gumba, R. E., Saallah, S., Misson, M., Ongkudon, C. M., and Anton, A. 2016. Green Biodiesel Production: A Review on Feedstock, Catalyst, Monolithic Reactor, and Supercritical Fluid Technology. *Biofuel Research Journal*. 3(3): 431–447.
- Gupta, N., Rathi, P., and Gupta, R. 2002. Simplified para-Nitrophenyl Palmitate Assay for Lipases and Esterases. *Analytical Biochemistry*. 311(1): 98-99.
- Hasanah, M., Sembiring, T., Sitorus, Z., Humaidi, S., Zebua, F., and Rahmadsyah. 2022. Extraction and Characterization of Silicon Dioxide from Volcanic Ash of Mount Sinabung, Indonesia: A Preliminary Study. *Journal of Ecological Engineering*. 23(3), 130–136.
- Hernandez-Martínez, D., Leyva-Verduzco, A.A., Rodríguez-Felix, F., Acosta-Elías, M., and Wong-Corral, F.J. 2020. Obtaining and Characterization of Silicon (Si) from Wheat Husk Ash for Its Possible Application in Solar Cells. *Journal of Cleaner Production*. 271(2020): 1-23.
- Hussain, M., Khan, I., Jiang, B., Zheng, L., Pan, Y., Hu, J., Ashraf, A., Din, A. S. U., Al-Ansi, W., Khan, A., and Zou, X. 2023. Lipases: Sources, Immobilization Techniques, and Applications. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*. 8(6): 94-121.
- Ischak, N. I., Salimi, Y. K., dan Botutihe, D. N. 2017. *Buku Ajar Biokimia Dasar*. UNG Press. Gorontalo.
- Jamal, Q. M. S. and Ahmad, V. 2022. *Lysinibacilli* : A Biological Factories Intended for Diseases Genus *Lysinibacillus*. *Journal of Fungi*. 8(1288): 1–19.

- Kamal, A. A. M., Mahazan, S. N. A. B., Abidin, N. H. Z., Ramli, F. F., and Ibrahim, W. N. W. 2024. Pre-Concentration of Organochlorine Pesticides Using Micro-Solid Phase Extraction Based on Bio-Sorbent Alginate-Silica Beads Derived From Oil Palm Frond. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*. 28(2): 441–460.
- Kaur, M., Kumar, R., Katoch, P., and Gupta, R. 2023. Purification and Characterization of Extracellular Lipase from a Thermotolerant Strain: *Bacillus subtilis* TTP-06. *Biotech*. 13(343): 1-13.
- Khudhair, S. H., Mohammed, M. K., and Jabbar, A. D. 2024. Immobilization of Lipase Enzyme Extracted from Thermophilic *Bacillus licheniformis* 14T Local Isolate. *Advancements in Life Sciences*. 11(2): 362–367.
- Kusumaningrum, A., Gunam, I. B. W., dan Wijaya, I. M. M. 2019. Optimasi Suhu dan pH terhadap Aktivitas Enzim Endoglukanase menggunakan Response Surface Methodology (RSM). *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 2(7): 243-253.
- Maharani, C.A., Suharti, S., and Wonorahardjo, S. 2020. Optimizing the Immobilization of Lipase Enzyme (*Aspergillus oryzae*) in the Silica and Silica-Cellulose Matrix by Adsorption Method. *Journal of Physics: Conference Series*. 12011(1595): 1-9.
- Mazhar, H., Afzal, A., Aman, S., Khawar, M. B., Hamid, S. E., Ishaq, S., Ali, S. S., Zhu, H., and Hussain, Z. 2023. Purification and Characterization of Lipase Produced from *Bacillus cereus* (PCSIR NL-37). *Bionatura*. 8(1): 1-8.
- Muyassaroh., Dewi, K. R., dan Minah, F. N. 2020. Penentuan Kadar Protein pada *Spirulina Platensis* menggunakan Metode Lowry dan Kjeldah. *Jurnal Teknik Kimia*. 15(1): 40–46.
- Moraes, M.J.B., Moraes, J.C.B., Tashima, M.M., Akasaki, J.L., Soriano, L., Borrachero, M. V., and Pay' a, J. 2019. Production of Bamboo Leaf Ash by Auto-Combustion for Pozzolanic and Sustainable Use in Cementitious Matrices. *Construction Building Materials*. 208(2019) 369–380.
- Nawani, N., Singh, R., and Kaur, J. 2006. Immobilization and Stability Studies of a Lipase from Thermophilic *Bacillus sp*: The Effect of Process Parameters on Immobilization of Enzyme. *Electronic Journal of Biotechnology*. 5(9): 559-565.
- Nugroho, S.E. and Yudha, S. 2024. Preparasi Logam Oksida-Biogenik Silika dan Aplikasinya Dalam Penghilangan Zat Warna: Sebuah Telaah Pustaka. *Rafflesia Journal of Natural and Applied Sciences*. 4(1): 242-251.
- Nurhasanah., Laila, A., Satria, H., Juliasih, N. L. G. R., and Husna, Q. N. 2023. Characterization of Organic Solvent Tolerance Lipase from Compost Indigenous Bacteria. *Atlantis Press International BV*. 20-29.
- Nurlinda, B. M. 2024. Imobilisasi Enzim Lipase dari Bakteri *Pseudomonas sp*. LPG171 dengan Matriks Zeolit Alam Teraktivasi. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.

- Norsuraya, S., Fazlena, H., and Norhasyimi, R. 2016. Sugarcane Bagasse as a Renewable Source of Silica to Synthesize Santa Barbara Amorphous-15 (SBA-15). *Procedia Engineering*. 148(2016): 839–846.
- Onoja, E., Attan, N., Chandren, S., Razak, F. I. A., Keyon, A. S. A., Mahat, N. A., and Wahab, R. A. 2017. Insights Into the Physicochemical Properties of the Malaysian Oil Palm Leaves as an Alternative Source of Industrial Materials and Bioenergy. *Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences*. 13(4): 623–631.
- Onoja, E., Chandren, S., Razak, F. I. A., and Wahab, R. A. 2018. Extraction of Nanosilica from Oil Palm Leaves and its Application as Support for Lipase Immobilization. *Journal of Biotechnology*. 283(10): 81–96.
- Onoja, E. and Wahab, R. A. 2019. Effect of Glutaraldehyde Concentration on Catalytic Efficacy of *Candida rugosa* Lipase Immobilized onto Silica from Oil Palm Leaves. *Indonesian Journal of Chemistry*. 19(4): 1043–1054.
- Onoja, E. and Wahab, R. A. 2020. Robust Magnetized Oil Palm Leaves Ash Nanosilica Composite as Lipase Support: Immobilization Protocol and Efficacy Study. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 192(2): 585–599.
- Paul, C., Hanefeld, U., Hollmann, F., Qu, G., Yuan, B., and Sun, Z. 2024. Enzyme Engineering for Biocatalysis. *Molecular Catalysis*. 555: 1–13.
- Rahmi, H., Hariyanti., Putri, R., dan Wulandari, A. 2020. Analisis Hasil Fraksinasi Protease dan Lipase yang Berasal dari Saluran Pencernaan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*. 7(2): 194–202.
- Rait, A. S., Nurhasanah., dan Bahri, S. 2022. Pemurnian Parsial Enzim Lipase dari Bakteri Isolat Lokal LKMA3 dan Penentuan Aktivitasnya dengan Metode Spektrofotometri. *Seminar Nasional FMIPA, SN-SMIAP-VI*. 1–5.
- Sari, V. I. 2023. Studi Kestabilan Lipase dari Bakteri *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1 terhadap Variasi pH, Suhu, dan Pelarut Organik. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Sholeha, R. dan Agustini, R. 2021. Lipase Biji-Bijian dan Karakteristiknya. *UNESA Journal of Chemistry*. 10(2): 168–183.
- Simamora, C. J. K. dan Sukmawati, S. 2020. Identifikasi dan Karakterisasi Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Lipase Isolat Bakteri Lipolitik Lptk 19 Asal Tempe Biji Karet. *Median*. 12(1): 28–37.
- Sugahara, V. H. and Varéa, G. S. 2014. Immobilization of *Beauveria bassiana* Lipase on Silica Gel by Physical Adsorption. *Brazilian Archives Of Biology And Technology*. 57(6): 842–850.
- Su'i, M. dan Suprihana. 2013. Fraksinasi Enzim Lipase dari Endosperm Kelapa dengan Metode Salting Out. *AGRITECH*. 4(33): 377–383.

- Sulistiyani, M., Huda, N., Prasetyo, R., and Alauhdin, M. 2023. Calibration of Microplate UV-Vis Spectrophotometer for Quality Assurance Testing of Vitamin C using Calibration Curve Method. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 12(2): 208–215.
- Sumarsih, S., Hadi, S., Fatimah., Fitri, R. D., and Illavi, G. 2024. *Lysinibacillus sphaericus* Isolated from Oil Waste Land as Lipase Producer. *Hayati Journal of Biosciences*. 3(31): 425-431.
- Suryani, Y. dan Taupiqurrahman, O. 2021. *Mikrobiologi Dasar*. LP2M UIN SGD Bandung. Bandung.
- Tessema, B., Gonfa, G., Hailegiorgis, S. M., and Prabhu, S. V. 2023. An Overview of Current and Prognostic Trends on Synthesis, Characterization, and Applications of Biobased Silica. *Advances in Materials Science and Engineering*. 2023(4): 1-23.
- Wakil, S. M. and Osesusi, O. A. 2017. Production, Characterization and Purification of Lipase by Bacteria Isolated from Palm Oil Mill Effluent and Its Dumpsites Soil. *Nigerian Journal of Microbiology*. 31(1): 3691-3703.
- Wahyuni, A. M., Afthoni, M. H., dan Rollando. 2022. Pengembangan dan Validasi Metode Analisis Spektrofotometri UV-Vis Derivatif untuk Deteksi Kombinasi Hidrokortison Asetat dan Nipagin pada Sediaan Krim. *Sainsbertek Jurnal Ilmiah Sains & Teknologi*. 3(1): 239–247.
- Wardoyo, F. A. dan Kartika, A. I. 2017. Imobilisasi Enzim Lipase pada Padatan Pendukung Zeolit Alam. *Prosiding Seminar Nasional Publikasi Hasil-Hasil Penelitian dan Pengabdian Masyarakat*. 141–145.
- Wening, K. W. dan Herdyastuti, N. 2021. Review: Imobilisasi Enzim Papain dengan Silika Mesopori dan Karagenan Sebagai Bahan Pendukung. *UNESA Journal of Chemistry*. 10(3): 268-279.
- Wong, W. K. L., Wahab, R. A., and Onoja, E. 2020. Chemically Modified Nanoparticles from Oil Palm Ash Silica-Coated Magnetite as Support for *Candida rugosa* Lipase-Catalysed Hydrolysis: Kinetic and Thermodynamic Studies. *Chemical Papers*. 74(4): 1253–1265.
- Yandri, A. S. dan Suhartati, T. 2018. *Kestabilan Enzim*. AURA. Bandar Lampung.
- Yandri, A. S., Tiarsa, E. R., Suhartati, T., Irawan, B., and Hadi, S. 2023. Immobilization and Stabilization of *Aspergillus fumigatus* α -Amilase by Adsorption on a Chitin. *Emerging Science Journal*. 1(7): 77-89.
- Yudha, S. S., Adfa, M., Istiqphara, S., Falahudin, A., and Reagen, M. A. 2024. Preparation of Oil Palm Leaves Ash-Supported Titania for the Elimination of Safranin-O Dye in Water. *Molekul*. 19(2): 352–359.

- Yudha, S. S., Falahudin, A., Kaus, N. H. M., Thongmee, S., Ikram, S., and Asdim, A. 2020. Preliminary Synthesis of Calcium Silicates using Oil Palm Leaves and Eggshells. *Bulletin of Chemical Reaction Engineering and Catalysis*. 15(2): 561–567.
- Zhang, D. H., Yuwen, L. X., and Peng, L. J. 2013. Parameters Affecting the Performance of Immobilized Enzyme. *Journal of Chemistry*. 2013(12): 1-7.